



Universidade de Évora

**Caracterização de azeites monovarietais obtidos
utilizando diferentes tecnologias.**

Luis Maria Pestana de Torres Vaz Freire

Dissertação apresentada à Universidade de Évora para obtenção
do Grau de Doutor no ramo de Engenharia Agro-Alimentar

Orientador da Tese:

Prof. Doutora Ana Maria Costa Freitas Drumond Ludovice

Co-orientador:

Prof. Doutor José Manuel Baptista de Gouveia

“Esta tese não inclui as críticas e sugestões feitas pelo júri”

Évora

2008



171896

Aos meus filhos Maria do Carmo e José Maria.

U.E. Serviços Académicos	N.º <u>ED/24833</u>
<u>18.11.08</u> <u>Filomena</u>	Sector: <u>DEPG</u>

Agradecimentos

À Professora Doutora Ana Maria Costa Freitas de Drumond Loduvic e ao Professor Doutor José Manual Baptista de Gouveia, orientadora e co-orientador desta dissertação, o meu sincero agradecimento, pela valiosa orientação, apoio e incentivos preciosos sem os quais não seria possível terminar este trabalho.

Às Eng.as Paula Vasconcelos e Ana Carrilho, pela ajuda disponibilidade e incentivos. Às Senhoras Marlene Dionísio, Fátima, Maria de Lurdes, Margarida que sempre estiveram disponíveis para dar o seu contributo, para além da sempre agradável companhia.

Eng. Maria do Céu Guerra, Eng. Paula Simões e Doutora Cidália Peres, pela sua disponibilidade e boa vontade que fez com que o trabalho efectuado na Estação de Melhoramento de Plantas, em Elvas, fosse possível.

Ao Eng. Manuel Guerra, Prof. Doutor Anacleto Pinheiro, Eng. Mário Figueira e Doutor António Dias, pela disponibilidade que tiveram em ceder as amostras de azeitonas utilizadas neste trabalho.

Ao Prof. Doutor Marco Gomes da Silva pela disponibilidade que demonstrou na colaboração das análises por GCxGC-MS.

Aos Prof. Doutor Fernando Rei e Prof. Doutor Paulo Infante pela disponibilidade que demonstraram na colaboração para a análise estatística.

Ao Doutor Peter Surovy pela disponibilidade que demonstrou na colaboração com o *software* ImageJ.

Aos estagiários que trabalharam comigo, em especial Luis Dias, Vera Palma e Laurine, o meu obrigado pela forma que responderam ao trabalho exigente que se impunha

Aos meus colegas da Universidade de Évora pela prontidão na ajuda e disponibilidade para a boa disposição, Maria João Cabrita, Ana Elisa Rato, Graça Machado, Isabel Ferraz de Oliveira, entre outros.

Aos meus amigos que sempre me incentivaram e motivaram durante a realização deste trabalho.

À Dra. Maria Francisca Pestana de Vasconcelos, minha tia, pela preciosa ajuda.

Ao Projecto Agro 824 - Caracterização electrónica do aroma de azeites DOP-Influência da tecnologia e da maturação na qualidade do azeite. Pelo financiamento concedido para a realização deste trabalho.

À Fundação para a Ciência e Tecnologia, pelo financiamento concedido para a realização deste trabalho, sem o qual esta tarefa não se tinha realizado, através da bolsa de doutoramento – SFRH/BD/8890/2002.

À minha família, em especial à minha mulher Inês, à minha filha Maria do Carmo e ao meu filho José Maria pela compreensão, apoio e tempo. Aos meus avós e aos meus irmãos João e António, pela amizade. Aos meus Pais pelos seus ensinamentos e pela oportunidade de Vida que me deram.

Resumo

No presente trabalho compara-se a influência de duas linhas de processamento sobre as características físico-químicas e sensoriais dos azeites: o sistema de prensas (SP) e uma centrífuga horizontal (decanter “duas fases”). Foram utilizadas as azeitonas das variedades portuguesas Galega Vulgar, Cobrançosa e Carrasquenha. As azeitonas foram avaliadas quanto ao estado sanitário (pragas e doenças), e foram colhidas num estágio de maturação determinado pelo índice de maturação de Jaen.

Os azeites obtidos foram numa primeira fase, avaliados e classificados tendo por base critérios de qualidade. Outro ponto de vista contemplado neste estudo foram os critérios de pureza, segundo os regulamentos da Comunidade Europeia (CE), Regulamento (CE) N.º 1989/2003 e N.º 2568/91.

Relativamente aos azeites foi possível comparar a detecção electrónica de aromas por “nariz electrónico” com análise sensorial.

Por fim, utilizaram-se duas tecnologias para analisar os compostos voláteis do azeite: o SPME-GC-MS e o SPME GCxGC-MS, esta última, com aplicação de um *software* de tratamento de imagem, ImageJ.

Os dados obtidos nas determinações analíticas, efectuadas nos azeites extraídos pelos dois sistemas foram tratados estatisticamente.

Dos resultados obtidos, verificou-se haver diferenças significativas entre os azeites extraídos por técnicas diferentes, principalmente em relação aos parâmetros acidez e análise sensorial. A tecnologia de prensagem revelou-se associada a teores de acidez mais elevados, e as maiores pontuações de análise sensorial, foram obtidos com os azeites extraídos por centrifugação de duas fases. Dos parâmetros de “pureza”: ácidos gordos, existe uma tendência para se dar a separação entre variáveis independentemente do tipo de extracção ou ano de colheita, mostrando assim que o perfil de ácidos gordos poderá ser uma boa fonte para caracterização de cultivares; triacilgliceróis, existe uma tendência para a separação entre variedades, independentemente do tipo de extracção ou ano de colheita, mostrando assim que o perfil de triacilgliceróis poderá ser uma boa fonte para caracterização de cultivares, sendo mais evidente para as cultivares Carrasquenha e Galega Vulgar.

A análise sensorial, parece ser mais efectiva na detecção de diferenças mais globais, estes resultados podem ser explicados pela complexidade dos compostos que

são perceptíveis na análise sensorial, e que contribuem para o resultado organoléptico, em que as amostras são cheiradas e saboreadas, enquanto que no “nariz electrónico” apenas a fracção volátil é avaliada.

O método SPME, mostrou ser uma técnica de extracção rápida e sensível, tendo-se identificado mais de 42 compostos do aroma do azeite neste trabalho (GC-MS). Apesar do número de compostos extraídos ser muito inferior aos já identificados por outros autores, estes compostos foram suficientes para distinguir as diferentes amostras. A fibra DVB/CAR/PDMS permitiu a extracção de um maior número de compostos, apresentando maior sensibilidade para os compostos presentes em concentrações vestigiais.

A análise por GCxGC-MS, cromatografia gasosa bidimensional, permitiu obter informação valiosa, que não foi possível obter com a análise unidimensional GC.

A utilização de *software* de tratamento de imagem, Image J, tornou possível de forma expedita e clara, o tratamento da grande quantidade de dados que são obtidos com a cromatografia bidimensional.

Demonstrou-se que a caracterização da impressão digital é possível recorrendo a métodos mais rápidos do que a identificação total de informação fornecida por GCxGC-MS.

Estes resultados abriram pois a possibilidade de utilização da tecnologia GCxGC-MS associado a um *software* de imagem como o ImageJ, no tratamento de dados, tornando “rotina” por exemplo a detecção e controlo de faudes.

Financiado:

Fundação para a Ciência e Tecnologia, através da Bolsa de Doutoramento – SFRH/BD/8890/2002.

Ministério da Agricultura e Pescas - Project Agro 824.

Abstract

Monovarietals olive oils characterization: evaluation of technologies

In the present work two olive oils processing lines are compared: press system (SP) and two phase decanter (D). Their influence on the sensorial and physico-chemical characteristics of the produced oils is evaluated. Olives of the Portuguese varieties *Galega Vulgar*, *Cobrançosa* and *Carrasquenha* were used after analytical analysis. Plagues attack was determined and harvest was performed after maturation index determination. The Jaén method was applied.

Oils were produced under controlled conditions in medium scale apparatus. The produced oils were analyzed in respect to the so-called “quality” and “purity” criteria using the terms referred by European Community (EC) regulation (EC) N.º 1989/2003 and N.º 2568/91. All analytical results were statistically evaluated by means of parametric or non-parametric statistical analysis according to the data. Variety and/or extraction technology were always the independent variable.

To all oils sensorial analysis, by a trained sensorial panel was performed. Besides, also electronic aroma detection was accomplished. Results were, as well, statistically compared.

The impact of the technology on the final aroma/quality was determined after GC analysis of the volatile fraction. Extraction from the matrix was made by SPME. For analysis GC-MS and GCxGC-Tof-MS.

GCxGC-Tof –MS data was treated by means of Image software (Image J) after transformation into 8 bits and or RGB images.

The analytical results obtained from the different technologies, showed significant differences for acidity and sensorial analysis. Press system is associated to higher acidity values whilst higher sensorial punctuations were obtained for the two phase decanter oils. Fatty acids results seem to be adequate for separation based on extraction and /or harvest year, as well as varieties; triglycerides can be used for the same objectives; however, these assumptions are more effective for the *Carrasquenha* and *Galega Vulgar* cultivars.

When sensorial analysis results were compared to electronic aroma detection results the first give better results either when separations based on variety are concerned or on extraction. The use of the taste sense (or less volatile compounds) along with sensors chemical composition might be the explanation for this.

When volatiles/aroma compounds were chromatographed, after SPME extraction, 42 compounds were unequivocally identified. Although this number was considerably smaller then already stated by others it was enough to differentiate among varieties. For SPME extraction DVB/CAR/PDMS fiber was used since it showed a higher sensitivity mainly for trace compounds.

When comprehensive GCxGC was used the number of identified/detected compounds was approximately 102. The use of image analysis, by means of ImageJ software, avoided the difficulties inherent to the processing of the huge amount of information, usually obtained, by comprehensive GC. These method, applied for the first time to GC x GC data, proved to be an easy and fast alternative perfectly usable when the aim is, not an exhaustive identification but the identification of a matrix “fingerprint”. Separation of olive oils based on cultivars and/or extraction technology was achieved. The use of image treatment based on the transformation of data into RGC images gave better results thus the 8 bits images.

Financed by:

Fundação para a Ciência e Tecnologia FCT, PhD Scholarship –
SFRH/BD/8890/2002.

Ministério da Agricultura e Pescas - Project Agro 824.

Abreviaturas e Definições

Car – Carrasquenha

CAS - *Chemical Abstract Service* - Serviço de identificação

Cob – Cobrançosa

CG - Cromatografia Gasosa

CG-EM - Cromatografia Gasosa - Espectroscopia de Massa

DB-5 – 95% dimetil, 5% difenilpolisiloxano da J&W Scientific®

DB-WAX - Polietilenoglicol da J&W Scientific®

DF – Duas fases

DOP – Denominação de Origem Protegida

DVB – Divinilbenzeno

DIC - Detector por Ionização de Chama

DPR - Desvio Padrão Relativo

CE – Comunidade Europeia

EM - Espectroscopia de Massa

FID - *Flame Ionization Detector* - Detector por Ionização de Chama

GV – Galega Vulgar

GC - *Gas chromatography* - Cromatografia Gasosa

HDL - *High density Lipoprotein* - Lipoproteína de alta densidade.

IPR - Indicação de Proveniência Regulamentada

IVV - Instituto da Vinha e do Vinho

LD – Limite de Detecção

LDL – *Low density Lipoprotein* - Lipoproteína de baixa densidade

LDO - Limite de detecção odorífica.

MIS - Monitorização de Ião Seleccionado

MIT ou CIT- Monitorização Iónica Total ou Corrente Iónica Total

N ou n - Número de amostras

ND, Nd ou nd - Não determinado

P - Prensa

PA – Poliacrilato

PCA – *Principal Component Analysis* - Análise de componentes principais

PDMS - Polidimetilsiloxano

R - Coeficiente de Correlação

RGB - é a abreviatura do sistema de cores aditivas formado por Vermelho (*Red*), Verde (*Green*) e Azul (*Blue*)

RT – *Retention Time* – Tempo de Retenção

SCAN ou TIC - *Full Scan Detection Mode or Total Ion Corrent*

SDE - *Simultaneous Distillation and Extraction* - Destilação e Extracção Simultâneas

SPME - *Solid Phase Microextraction* - Microextracção em Fase Sólida

GI – Graus de Liberdade

Df – *Degrees of Freedom* – Graus de Liberdade

Sig. – Significância

VAO - Valor da actividade

T - Trans

Índice de Matérias

Agradecimentos	ii
Resumo	iv
Abstract	vi
Abreviaturas e Definições	viii
Índice de Matérias	x
Índice de Figuras	xv
Índice de Quadros	xxx
 INTRODUÇÃO	 1
 CAPÍTULO I - O AZEITE E OS MÉTODOS DE EXTRACÇÃO	 4
1.1. Azeite e a sua história	5
1.2. O azeite	6
1.2.1 - Composição química do azeite	8
1.2.1.1. Fracção saponificável	9
1.2.1.2. Fracção insaponificável	11
1.2.1.2.1. O aroma do azeite	13
1.3. Caracterização das variedades das azeitonas estudadas	14
1.3.1. Galega Vulgar	14
1.3.2. Carrasquenha	15
1.3.3. Cobrançosa	16
1.4. As zonas de produção dos Azeites do Alentejo	18
1.5. Tecnologia de Extracção	20
1.5.1 A história	20
1.5.2. Actualidade	21
1.5.3. Extracção por prensas	23
1.5.4. Extracção por centrifugação, de “duas fases”	24
1.6. Avaliação qualitativa	24
1.6.1. Avaliação qualitativa das Azeitonas	25
1.6.1.1. A cor da azeitona. Determinação do Índice de Maturação pelo método Jaen	25
1.6.1.2. Determinação do teor de gordura, por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	25
1.6.1.3. Avaliação de pragas e doenças	26
1.6.2. Avaliação qualitativa do azeite	28
1.6.2.1. Acidez	28

1.6.2.2. Espectrofotometria no ultravioleta	29
1.6.2.3. Índice de peróxido	29
1.6.2.4. Rancidez ou Estabilidade Oxidativa	29
1.6.2.5. Esteróis e álcoois triterpénicos	30
1.6.2.6. Ácidos gordos totais	31
1.6.2.7. Ceras	31
1.6.2.8. Polifenóis	32
1.6.2.9. Ácidos gordos em posição 2	32
1.6.2.10. Tocoferóis	33
1.6.2.11. Álcoois Alifáticos	33
1.6.2.12. Análise sensorial	34
1.6.2.13. Compostos voláteis do azeite	35
1.6.2.13.1. Fenómenos de oxidação	38
1.6.2.13.2. Principais defeitos no azeite e sua biogénese	41
1.6.2.13.3. Análise electrónica dos aromas por “Nariz Electrónico”	42
1.6.2.13.4. Análise dos compostos do aroma por <i>SPME-GC-MS</i>	44
(<i>Solid Phase Microextraction - Gas chromatography - Mass Spectrometry</i>)	
1.6.2.13.4.1. Princípios da Microextração em Fase Sólida (<i>Solid Phase Microextraction, SPME</i>)	44
1.6.2.13.4.2. Tipos de fibras	45
1.6.2.13.4.3. Extrações de Fase de Vapor ou Fase Líquida (<i>Fibra Imersa</i>)	47
1.6.2.13.4.4. Optimização da amostra em <i>SPME</i>	48
1.6.2.13.4.5. A importância do Padrão Interno (<i>PI</i>)	49
1.6.2.13.4.6. Análise por Cromatografia em Fase Gasosa (<i>CG</i>)	50
1.6.2.13.4.7. Utilização de <i>Finger Printing</i> (“impressão digital”) na análise dos compostos do aroma	52
1.6.2.13.4.8. <i>Software Image J</i>	54
 CAPÍTULO II - PARTE EXPERIMENTAL	 55
2.1. Material e Métodos	56
2.1.1. Cultivares utilizadas no estudo	56
2.1.1.1. Origem das azeitonas	56
2.1.1.1.1. Localização e Caracterização dos Olivais	56
2.1.1.1.1.1. Galega Vulgar	56
2.1.1.1.1.2. Carrasquenha	57
2.1.1.1.1.3. Cobrançosa	57
2.1.1.2. Condições Meteorológicas	58

2.1.1.3. Colheita das amostras de azeitona.	58
2.1.1.4. Transporte para o lagar	59
2.1.2. Processamento	59
2.1.2.1. Procedimentos antes da extracção	59
2.1.2.2 Extracção	60
2.1.2.2.1. Moenda	60
2.1.2.2.2. Batedura	60
2.1.2.2.3. Extracção do azeite por prensas	61
2.1.2.2.4. Extracção do azeite por centrifugação de duas fases.	63
2.1.2.2.5. Preparação das amostras de azeite	64
2.1.3. Análises efectuadas	65
2.1.3.1. Análise das Azeitonas	65
2.1.3.1.1. Determinação de gordura por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	65
2.1.3.1.2. A cor da azeitona. Determinação do Índice de Maturação de Jaen	65
2.1.3.1.3. Controlo de pragas e doenças	66
2.1.3.2 Azeites	66
2.1.3.2.1. Acidez	66
2.1.3.2.2. Análise por espectrofotometria no Ultravioleta.	66
2.1.3.2.3. O índice de Peróxidos	67
2.1.3.2.4. A Rancidez ou Estabilidade Oxidativa	67
2.1.3.2.5. Esteróis e álcoois triterpénicos	67
2.1.3.2.6. Ácidos gordos	68
2.1.3.2.7. Ceras	68
2.1.3.2.8. Polifenóis	69
2.1.3.2.9. Triacilgliceróis	69
2.1.3.2.10. Tocoferóis	70
2.1.3.2.11. Álcoois Alifáticos	70
2.1.3.2.12. Análise Sensorial	71
2.1.3.2.13. Detecção electrónica de aromas por “Nariz Electrónico”	72
2.1.3.2.14. Extracção de voláteis por SPME-GC-MS	74
2.1.3.2.14.1. SPME	74
2.1.3.2.14.2. GC-MS	76
2.1.3.2.15. Análise de voláteis por SPME-GC×GC-TOF-MS	77
2.1.3.2.15.1 SPME (GC×GC)	77
2.1.3.2.15.2. GC×GC/TOF-MS	77
2.1.3.2.16. Identificação por imagem	78
2.1.3.2.17. Tratamento dos dados	79

CAPÍTULO III - RESULTADOS E DISCUSSÃO	80
3.1. Olival e condições meteorológicas	81
3.2. Parâmetros analisados para as Azeitonas	82
3.2.1. Controlo de pragas e doenças	82
3.3. Parâmetros analisados para os Azeites	84
3.3.1. Critérios de qualidade	85
3.3.2. Critérios de pureza	90
3.3.2.1. Esteróis e álcoois triterpénicos	91
3.3.2.2. Ácidos gordos	97
3.3.2.3. Triglicéridos	100
3.3.3.4. Estabilidade oxidativa	102
3.3.3.5. Polifenóis	106
3.3.3.6. Tocoferóis	108
3.3.3.7. Ceras	112
3.3.3.8. Álcoois Alifáticos	119
3.3.3. A análise sensorial versus a detecção electrónica de aromas	122
3.3.4. Extracção de voláteis por SPME –GC-MS	125
3.3.4.1. Optimização do método de SPME	125
3.3.4.2. Separação e identificação dos compostos do aroma das amostras em estudo	128
3.3.4.3. Análise Estatística	137
3.3.4.3.1. Análise por Componentes Principais	144
3.3.5. GCxGC-MS	147
3.3.5.1. Validação do tratamento	152
3.3.5.2 Análise de componentes principais (Principal Components Analysis - PCA)	155
3.3.5.3. RGB	158
3.3.5.3.1. Análise de componentes principais (Principal Components Analysis - PCA)	159
CAPÍTULO IV - CONCLUSÕES	162
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	166
ANEXOS	190
Anexo I. Registo das Condições meteorológicas	191
Anexo II. Análise estatística para as azeitonas	193
Anexo III. Registo das temperaturas da batedura.	199
Anexo IV. Folha de Prova para a Análise Sensorial	201

Anexo V. Nariz electrónico, sensores.	203
Anexo VI. Fluxogramas para classificação de azeites	206
Anexo VII. Critérios de qualidade para o azeite.	210
Anexo VIII. Análise estatística para critérios de qualidade, azeite.	213
Anexo IX. Critérios de pureza.	223
Anexo X. Análise estatística, critérios de pureza.	238
Anexo XI. GC-MS	268
Anexo XII. Análise estatística, GC-MS	271
Anexo XIII. GCxGC-MS	273
Anexo XIV. Trabalhos apresentados e publicados no âmbito deste trabalho	282

Índice de Figuras

Figura 1.1	19
A área geográfica de produção do Azeite do Norte Alentejo, Moura e Alentejo Interior. Fonte: CEPAAL, 2005	
Figura 1.2	26
Observação com lentes de alta resolução de uma azeitona atacada por gafa (Foto: Adaptação de Barranco <i>et al.</i> , 2001).	
Figura 1.3	27
Observação da evolução de contaminação de uma azeitona ataca com gafa (Foto: Adaptação de Barranco <i>et al.</i> , 2001).	
Figura 1.4	27
Mosca da azeitona (A), larva da mosca da azeitona (B) (Foto: Adaptação de Barranco <i>et al.</i> , 2001).	
Figura 1.5	34
Esquema dos mecanismos olfactivos e gustativos (Fonte: Adaptado de Manual Merck de Saúde para a Família, 2007).	
Figura 1.6	40
Diagrama do mecanismo da oxidação enzimática do ácido linoleico e linolénico - Via da lipoxigenase. (Adaptado de Cavalli <i>et al.</i> , 2004).	
Figura 1.7	43
Aparelho Fox da Alpha-Mos utilizado, conhecido por “Nariz Electrónico”. (a) - módulo de amostragem; (b) - sistema de sensores, (c) - sistema informático.	
Figura 1.8	47
Representação esquemática da extracção por absorção (A) <i>versus</i> extracção por adsorção (B). (Adaptado de Vaz-Freire, 2003)	
Figura 1.9	48
Exemplo de uma extracção com a fibra imersa (A) e em que a fibra é colocada na fase de vapor (B) (Adaptado: Vaz-Freire, 2003).	
Figura 1.10	51
Esquema de um sistema GCxGC. I – Injector; M – Modulador; D – Detector; 1 Coluna – Coluna capilar responsável pela primeira dimensão; 2 Coluna – Coluna capilar responsável pela segunda dimensão.	
Figura 2.1	59
Caixas utilizadas no transporte das azeitonas.	
Figura 2.2	61
Sistema de moenda, batedura e encapachamento utilizado no processo descontínuo de prensas.	
Figura 2.3	62
Prensa utilizada no sistema de extracção descontínuo com o mesmo nome.	

Figura 2.4	63
Sistema de decantação utilizado na extracção descontínua de prensas.	
Figura 2.5	64
Sistema Oliomio 50, utilizado na extracção contínua por centrifugação, de duas fases.	
Figura 2.6	71
Copos de prova normalizados	
Figura 2.7	72
Aparelho Fox da Alpha-Mos, conhecido por “Nariz Electrónico” (Foto cedida por Alpha-Mos).	
Figura 2.8	73
Condições de funcionamento do Aparelho Fox da Alpha-Mos, no sistema de incubação e injeção da amostra.	
Figura 2.9	73
Condições de funcionamento do Aparelho Fox da Alpha-Mos, no sistema de detecção	
Figura 2.10	75
Esquema de montagem utilizado na extracção dos compostos por SPME.	
Figura 2.11	76
Foto do Cromatógrafo GC Thermo Finnigan acoplado ao detector de massa PolarisQ, da Thermo Unicam (foto cedida por Thermo Unicam).	
 Figura 3.1	 82
Observação da evolução de contaminação de uma azeitona atacada de gafa. <i>A</i> - representa a infestação máxima típica das azeitonas que foram objecto deste estudo. (Adaptação de Barranco <i>et al.</i> , 2001).	
Figura 3.2	89
Gráfico que projecta as variáveis da análise de componentes principais dos factores considerados parâmetros de qualidade.	
Figura 3.3	90
Gráfico que projecta as médias dos azeites (n=3) de acordo com a análise de componentes principais dos factores considerados parâmetros de qualidade.	
Em que : Car – Carrasquenha; Cob – Cobrançosa; GV – Galega Vulgar; DF – duas fases; P – prensas.	
Figura 3.4	91
Análise de comparação ANOVA para os vários esteróis e álcoois triterpénicos, para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, a interacção Ano*Extracção. As barras verticais expressão um intervalo de confiança de 0,95.	
Figura 3.5	93
Análise de comparação ANOVA para os vários esteróis e álcoois triterpénicos, para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, a interacção Ano*Extracção. As barras verticais expressão um intervalo de confiança de 0,95.	
Figura 3.6	94
Análise de comparação ANOVA para os vários esteróis e álcoois triterpénicos, para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, a interacção Ano*Extracção. As barras verticais	

expressão um intervalo de confiança de 0,95.

Figura 3.7 96

Gráfico que projecta as médias dos azeites (n=3) de acordo com a análise de componentes principais dos factores considerados para os esteróis e álcoois triterpénicos.

Em que : Car – Carrasquenha; Cob – Cobrançosa; GV – Galega Vulgar; DF – duas fases; P – prensas.

Figura 3.8 97

Gráfico que projecta as variáveis da análise de componentes principais dos factores considerados para os esteróis e álcoois triterpénicos.

Figura 3.9 100

Gráfico que projecta as médias dos azeites (n=3) de acordo com a análise de componentes principais dos factores considerados, teores de ácidos gordos.

Em que : Car – Carrasquenha; Cob – Cobrançosa; GV – Galega Vulgar; DF – duas fases; P – prensas.

Figura 3.10 101

Gráfico que projecta as variáveis da análise de componentes principais dos factores considerados para os triacilglicerídeos.

Figura 3.11 101

Gráfico que projecta as médias dos azeites (n=3) de acordo com a análise de componentes principais dos factores considerados, teores de triacilglicerídeos.

Em que : Car – Carrasquenha; Cob – Cobrançosa; GV – Galega Vulgar; DF – duas fases; P – prensas.

Figura 3.12 104

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Resistência Oxidativa, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis : $H(1, N=54) = 10,24630$ $p = ,0014$

SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 3.13 105

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Resistência Oxidativa, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 3.14 106

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o teor de polifenóis, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis : $H(1, N=72) = 1,108895$ $p = ,2923$

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 3.15 107

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para os polifenóis, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades (na tabela seguinte, podem observar-se os níveis de significância).

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 3.16 108

Análise Correlação entre o teor de polifenóis e a resistência oxidativa.

Figura 3.17	108
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Gama Tocoferol, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, o método de extracção. O teste Kruskal-Wallis : $H(1, N=72) = 8,738091$ $p = 0,3499$.	
Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 3.18	109
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Alfa Tocoferol, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, o método de extracção. O teste Kruskal-Wallis : $H(1, N=72) = 2,969178$ $p = 0,0849$	
Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 3.19	109
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Alfa Tocoferol, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades (na tabela seguinte, podem observar-se os níveis de significância).	
Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 3.20	110
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Gama Tocoferol, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades (na tabela seguinte, podem observar-se os níveis de significância).	
Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 3.21	111
Relação entre a resistência à oxidação e Alfa Tocoferol, Gama Tocoferol e a quociente Alfa/Gama Tocoferol, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar.	
Figura 3.22	112
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a relação Alfa/Gama Tocoferol, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.	
Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 3.23	113
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C 40, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, o método de extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=72) = 3,537418$ $p = 0,0600$	
Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 3.24	113
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C 42, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, o método de extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=72) = 8,321918$ $p = 0,3616$	
Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 3.25	114
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C 44, para a variedade Carrasquenha,	

Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, o método de extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=72) = 1,1339782$ $p = ,7143$

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 3.26 114

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C 46, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, o método de extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=72) = 1,243151$ $p = ,2649$

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 3.27 115

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o Total de ceras, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, o método de extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=72) = 1,619609$ $p = ,2031$

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 3.28 115

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C 40, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 3.29 116

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C 42, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 3.30 116

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C 44, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 3.31 117

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C 46, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 3.32 117

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o Total Ceras, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 3.33 119

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o Total de Álcoois Alifáticos, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, o método de extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=72) = ,2683917$ $p = ,6044$

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 3.34 120

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o teor de álcoois alifáticos totais, para a

variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 3.35 123

Gráfico da análise de componentes principais para a cultivar Galega Vulgar. Separação foi obtida utilizando todos os sensores disponíveis.

Em que: *Discrimination Index* - Índice de Discriminação; C1 e C2 (Componente principal 1 e 2) e a Azul – Sistema de prensas; Vermelho - Centrifuga de duas fases.

Figura 3.36 124

Gráfico da análise de PCA, para a variedade Galega Vulgar. Separação foi obtida com a tecnologia que permite a optimização da selecção dos sensores.

Em que: *Discrimination Index* - Índice de Discriminação; C1 e C2 (Componente principal 1 e 2) e a Azul – Sistema de prensas; Vermelho - Centrifuga de duas fases.

Figura 3.37 126

Valores de DPR (%) referentes à determinação do volume óptimo de matriz, referentes a alguns dos compostos extraídos por SPME, utilizando a fibra DVB/CAR/PDMS, para um tempo de extracção de 30 min e aquecimento a 40°C.

Figura 3.38 127

Número de compostos extraídos por cada uma das fibras em avaliação: PA e DVB/CAR/PDMS, pelo método SPME.

Figura 3.39 127

Quantidade, em termos de área total dos sinais cromatográficos dos compostos extraídos pela fibra PA e DVB/CAR/PDMS, pelo método SPME; (A) e área relativa dos compostos comuns extraídos pelas duas fibras (B).

Figura 3.40 130

Traçado de corrente iónica total de uma das amostras, obtida por SPME com uma fibra DVB/CAR/PDMS, (A) Compostos identificados no intervalo de tempo de 0-30 minutos, (B) Compostos identificados no o intervalo de tempo de 30-60 minutos, (C) Compostos identificados no intervalo de tempo de 60-90 minuto. (s = siloxanos ou sangramento da coluna). P.I - 4- Metil-2 Pentanol.

Figura 3.41 133

Traçado iónico total respectivo à variedade Carrasquenha, para os dois sistemas de extracção.

Figura 3.42 134

Traçado iónico total respectivo à variedade Cobrançosa, para os dois sistemas de extracção.

Figura 3.43 135

Traçado iónico total respectivo à variedade Galega Vulgar, para os dois sistemas de extracção.

Figura 3.44 138

Áreas relativas dos compostos identificados (quadro 3.15), pela análise SPME-GC-MS, correspondentes às amostras da cv Carrasquenha provenientes do método de prensas.

Figura 3.45 138

Áreas relativas dos compostos identificados (quadro 3.15), pela análise SPME-GC-MS, correspondentes às amostras da cv Carrasquenha provenientes do método de duas fases.	
Figura 3.46	140
Áreas relativas dos compostos identificados (quadro 3.15), pela análise SPME-GC-MS, correspondentes às amostras da cv Cobrançosa provenientes do método de Prensa.	
Figura 3.47	141
Áreas relativas dos compostos identificados (quadro 3.15), pela análise SPME-GC-MS, correspondentes às amostras da cv Cobrançosa provenientes do método de duas fases.	
Figura 3.48	142
Áreas relativas dos compostos identificados (quadro 3.15), pela análise SPME-GC-MS, correspondentes às amostras da cv Galega vulgar provenientes do método de Prensa.	
Figura 3.49	143
Áreas relativas dos compostos identificados (quadro 3.15), pela análise SPME-GC-MS, correspondentes às amostras da cv Galega vulgar provenientes do método de duas fases.	
Figura 3.50	146
Representação bidimensional de todas as amostras nas 1ª e 2ª componentes principais. COBP-Cobrançosa/Prensa; CAP- Carrasquenha/Prensa; GVP- Galega vulgar/Prensa; COBDF- Cobrançosa/duas fases; CADF- Carrasquenha/duas fases; GVDF- Galega vulgar/duas fases.	
Figura 3.51	146
Representação bidimensional de todos os compostos identificados, segundo a 1ª e 2ª componentes principais.	
Figura 3.52	148
Comparação entre um cromatograma obtido por HS-SPME-GC-MS (A) com o gráfico bidimensional para o azeite analisado por HS-SPME-GC×GC/ToF-MS (B), para a Galega Vulgar, extracção por prensas.	
Figura 3.53	149
Divisões dos quadrantes com o mesmo tamanho, cada um com 1000 s na 1ª D (1ª dimensão, <i>a</i> , <i>b</i> e <i>c</i>) e 2 s na 2ª D (2ª dimensão, <i>1</i> , <i>2</i> , <i>3</i> e <i>4</i>). E referência aos compostos detectados. (condições ver parte experimental 2.1.3.2.15.)	
Figura 3.54	153
Valores das áreas após o processamento pelo <i>software</i> LECO Corp ChromaTOFTM. Car – Carrasquenha; Cob – Cobrançosa; GV – Galega Vulgar	
Figura 3.55	154
Valores das áreas após o processamento pelo <i>software</i> ImageJ, 8 bit. Car – Carrasquenha; Cob – Cobrançosa; GV – Galega Vulgar	
Figura 3.56	155
Gráficos obtidos <i>software</i> LECO Corp ChromaTOF™. A – Amostras B – Quadrantes.	
Figura 3.57	156
Gráficos obtidos <i>software</i> ImageJ, 8 bits. A – Amostras B – Quadrantes.	
Figura 3.58	160

Representação gráfica das variáveis relativamente aos dois eixos das Componentes Principais, imagens GCxGC, para RGB.

Figura 3.59 161

Projecção das amostras para as diferentes variedades e métodos de extracção, imagens GCxGC, para RGB.

Figura 6.1 200

Registo da batadura para os vários anos para as várias amostras.

Figura 6.2 205

Exemplos de sensores A – Sensor Tipo T; B – Sensor Tipo P (Adaptado de AlfaMos, 2002).

Figura 6.3 205

Imagem representativa de um sensor tipo LY (adaptado de AlphaMos, 2002).

Figura 6.4 206

Fluxograma para verificar se azeite se pode classificar como azeite virgem extra, critérios de qualidade (esquema adaptado do Regulamento (CE) n.º. 1989/2003).

a) Ver azeite virgem ou lampante (critérios de qualidade, figura 6.6 (azeites virgens), ou critérios de qualidade e pureza, figura 6.7)

b) Ver azeite lampante (critérios de qualidade e pureza, figura 6.8)

Figura 6.5 207

Fluxograma para verificar se azeite se pode classificar como azeite virgem, critérios de qualidade (esquema adaptado do Regulamento (CE) n.º. 1989/2003).

a) Ver azeite lampante (critérios de qualidade e pureza, figura 6.8)

b) Ver azeite virgem extra (critérios de qualidade, figura 6.5)

Figura 6.6 208

Fluxograma para verificar se azeite se pode classificar como azeite virgem extra, critérios de pureza (esquema adaptado do Regulamento (CE) n.º. 1989/2003).

a) Presença de óleo refinado (azeite ou outros)

b) Presença de óleo de bagaço de azeitona

Figura 6.7 209

Fluxograma para verificar se azeite se pode classificar como azeite lampante, critérios de pureza (esquema adaptado do Regulamento (CE) n.º. 1989/2003).

a) Ver azeite virgem extra e azeite virgem (critérios de qualidade, figura 6.5 e 6.6)

b) Presença de óleo refinado (azeite ou outros)

c) Presença de óleo de bagaço de azeitona

d) Presença de óleos esterificados

Figura 6.8 214

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Acidez para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis test: $H(1, N=24) = 6,343354$; $p = ,0118$

Figura 6.9 214

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a absorvância K232, para a variedade

Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =,0675294 p =,7950	
Figura 6.10	215
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a absorvância K270, para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =,3014887 p =,5830	
Figura 6.11	215
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a absorvância ΔK , para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =,4808362 p =,4880	
Figura 6.12	216
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a absorvância Análise sensorial, para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =14,26582 p =,0002.	
Figura 6.13	216
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o Índice de Peróxidos, para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =,4414091 p =,5064.	
Figura 6.14	217
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Acidez, para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =14,59615 p =,0001.	
Figura 6.15	217
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a absorvância K 232, para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =,0133449 p =,9080	
Figura 6.16	218
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a absorvância K 270, para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =,4033333 p =,5254	
Figura 6.17	218
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a absorvância ΔK , para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =1,268603 p =,2600	
Figura 6.18	219
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Análise sensorial, para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =18,07367 p =,0000.	
Figura 6.19	219
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o Índice de Peróxidos, para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24)	

=,0535662 p =,8170.

Figura 6.20 220

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Acidez, para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =12,24342 p =,0005

Figura 6.21 220

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a absorvância K 232, para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =5,882558 p =,0153

Figura 6.22 221

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a absorvância K 270, para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =3,853333 p =,0496.

Figura 6.23 221

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a absorvância ΔK , para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =,7045090 p =,4013.

Figura 6.24 222

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Análise Sensorial, para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =8,325908 p =,0039

Figura 6.25 222

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Índice de Peróxidos, para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =2,435294 p =,1186.

Figura 6.26 245

Análise de comparação ANOVA para a C14:0, para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =4,260897 p =,0390±
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.27 245

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C16:0 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =,9633333 p =,3263
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.28 246

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C16:1 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =1,541504 p =,2144
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.29 246

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C17:0 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =5,026058 p =,0250
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.30	247
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C17:1 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 8,077081$ $p = ,0045$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.31	247
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:0 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 4,565318$ $p = ,0326$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.32	248
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:1 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = ,5633333$ $p = ,4529$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.33	248
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:2 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = ,0033333$ $p = ,9540$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.34	249
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C20:0 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 2,173169$ $p = ,1404$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.35	249
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:3 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis $H(1, N=24) = ,0208696$ $p = ,8851$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.36	250
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C20:1 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis $H(1, N=24) = 1,101552$ $p = ,2939$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.37	250
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C22:0 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 2,657235$ $p = ,1031$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.38	251
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C24:0 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = ,3717018$ $p = ,5421$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.39	251
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o T C18:1 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = ,0242616$ $p = ,8762$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	

Figura 6.40	252
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a T C18:2 + T C18:3 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 4,552577$ $p = ,0329$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.41	252
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C14:0 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 7,921076$ $p = ,0049$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.42	253
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C16:0 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $= ,8537045$ $p = ,3555$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.43	253
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C16:1 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = ,0208605$ $p = ,8852$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.44	254
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C17:0 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 5,166593$ $p = ,0230$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.45	254
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C17:1 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 5,285867$ $p = ,0215$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.46	255
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:0 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 1,921671$ $p = ,1657$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.47	255
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:1 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 3,001305$ $p = ,0832$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.48	256
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:2 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 1,333333$ $p = ,2482$	
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão	
Figura 6.49	256
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C20:0 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 1,037066$ $p = ,3085$	

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.50 257

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:3 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 3,542396$ $p = ,0598$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.51 257

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C20:1 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = ,7622625$ $p = ,3826$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.52 258

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C22:0 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = ,1221239$ $p = ,7267$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.53 258

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C24:0 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = ,2145460$ $p = ,6432$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.54 259

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a T C18:1 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = ,0037490$ $p = ,9512$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.55 259

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C14:0 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 2,281667$ $p = ,1309$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.56 260

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C14:0 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 1,233366$ $p = ,2668$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.57 260

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C16:0 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = ,8533333$ $p = ,3556$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.58 261

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C16:1 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = ,0533333$ $p = ,8174$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.59 261

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C17:0 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = ,2727273$ $p = ,6015$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.60 262

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C17:1 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 4818856$ $p = 4876$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.61 262

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:0 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 1202614$ $p = 7288$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.62 263

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:1 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0533333$ $p = 8174$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.63 263

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:2 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 3334783$ $p = 5636$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.64 264

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C20:0 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0075229$ $p = 9309$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.65 264

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:3 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 1013179$ $p = 7503$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.66 265

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C14:0 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0075492$ $p = 9308$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.67 265

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C22:0 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 1213187$ $p = 7276$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.68 266

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C24:0 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0700903$ $p = 7912$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.69 266

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a T C18:1 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 1680417$ $p = 1949$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.70 **267**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a T C18:2 + T C18:3 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 2,018745$ $p = ,1554$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Figura 6.71 **274**

Gráfico bidimensional para o azeite analisado por HS-SPME-GC×GC/ToF-MS, Carrasquenha, Duas fases, 1ª extracção 2002.

Figura 6.72 **274**

Gráfico bidimensional para o azeite analisado por HS-SPME-GC×GC/ToF-MS, Carrasquenha, prensas, 1ª extracção 2002.

Figura 6.73 **275**

Gráfico bidimensional para o azeite analisado por HS-SPME-GC×GC/ToF-MS, Cobrançosa, Duas fases, 1ª extracção 2002.

Figura 6.74 **275**

Gráfico bidimensional para o azeite analisado por HS-SPME-GC×GC/ToF-MS, Cobrançosa, prensas, 1ª extracção 2002.

Figura 6.75 **276**

Gráfico bidimensional para o azeite analisado por HS-SPME-GC×GC/ToF-MS, Galega Vulgar, Duas fases, 1ª extracção 2002.

Figura 6.76 **276**

Gráfico bidimensional para o azeite analisado por HS-SPME-GC×GC/ToF-MS, Galega Vulgar, prensas, 1ª extracção 2002.

Índice de Quadros

Quadro 1.1	10
Composição de ácidos gordos no azeite, expressos em percentagem do total dos ácidos gordos em diferentes países (Grancián Tous, 1968)	
Quadro 1.2	10
Composição de ácidos gordos do azeite, estabelecida pelas normas alimentares internacionais recomendadas pela Organização para a Agricultura e Alimentação (FAO) e pela Organização Mundial de Saúde (OMS) - valores médios.	
Quadro 1.3	12
Composição da fracção insaponificável do azeite	
Quadro 1.4	46
Tipos de fibras disponíveis e temperaturas de desadsorção ou desabsorção, para análise em CG (SUPELCO® Bellefonte, EUA) (Adaptado de Vaz-Freire, 2003).	
Quadro 3.1	83
Resultados de vários parâmetros determinados nas azeitonas durante os anos de estudo. Média de três determinações.	
Quadro 3.2	84
Para análise de ocorrência de diferenças para cada uma das variedades ao longo dos anos de análise. Os valores apresentados são as médias de três determinações	
Quadro 3.3	85
Classificações para os critérios de qualidade dos diversos azeites, estudados tendo por base o Regulamento (CEE) N.º 2568/91 para o Exame organoléptico e o Regulamento (CE) N.º 1989/2003 para a Acidez, Índice de Peróxidos e Espectrofotometria	
Quadro 3.4	87
Análise descritiva para todos os valores obtidos por Acidez, K 232, K 270, Delta K, Análise Sensorial e Índice de Peróxidos	
Quadro 3.5	88
Comparação das correlações entre os parâmetros de qualidade, com os parâmetros analisado para o estado sanitário das azeitonas.	
São significantes se $p < ,05000$. $N=27$.	
Quadro 3.6	99
Análise de variância não paramétrica Kruskal-Wallis ANOVA, para os ácidos gordos, para a variável independente, Extração.	
Quadro 3.7	102
Valores obtidos para a resistência oxidativa para todos os azeites.	
Quadro 3.8	105
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Resistência Oxidativa, para as variedades	

Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.	
Quadro 3.9	106
Correlação entre a Resistência Oxidativa, C18:1, C18:2 e C18:3, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar. N=72	
Quadro 3.10	107
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o teor de polifenóis, para as variedades Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.	
Quadro 3.11	110
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o teor de Alfa Tocoferol, para as variedades Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.	
Quadro 3.12	111
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o teor de Gama Tocoferol, para as variedades Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.	
Quadro 3.13	118
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para os teores de Ceras, para as variedades Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.	
Quadro 3.14	121
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para os teores de álcoois alifáticos, para as variedades Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.	
Quadro 3.15	129
Análise geral dos compostos do aroma do azeite, identificados nas amostras de azeite em estudo, com os índices de retenção confirmados em fontes bibliográficas	
Quadro 3.16	145
Valores próprios e variância explicada das primeiras três componentes principais extraídas quando se consideram os 42 compostos identificados em todas as amostras.	
Quadro 3.17	150
Identificação dos compostos presentes em cada um dos quadrantes para a totalidade dos azeites analisados.	
Quadro 3.18	159
Valores próprios e extracção das componentes principais, para os valores obtidos das imagens dos gráficos GCxGC.	
 Quadros 6.1	 192
Valores de Temperaturas no Posto Meteorológico da Herdade do Reguengo, Elvas.	
Quadros 6.2	192
Valores de Pluviosidade e Humidade no Posto Meteorológico da Herdade do Reguengo, Elvas.	
Quadro 6.3	194
Análise descritiva para os parâmetros analisados para os anos de 2002, 2003 e 2004 para as azeitonas.	
Quadro 6.4	195

Teste a normalidade para os parâmetros analisados para as azeitonas.	
Quadro 6.5	195
Teste de Levene (homogeneidade de variâncias).	
Quadro 6.6	196
Teste de comparação de médias Scheffe. Probabilidade para o teste Post Hoc	
Erro: Entre MS = 80,718, gl = 18	
Quadro 6.7	197
Teste de comparação de médias Scheffe.	
Quadro 6.8	198
Teste de comparação de médias Scheffe, análise em função das Variedades	
Quadro 6.9	204
AlphaMos – Sensores – Composição e Aplicação (adaptado de AphaMos, 2002)	
Quadro 6.10	211
Valores obtidos e respectivas classificações para os critérios de qualidade dos diversos azeites, estudados (Regulamento (CEE) N.º 2568/91 e Regulamento (CE) N.º 1989/2003)	
Quadro 6.11	224
Valores obtidos e respectivas classificações para os esteróis e álcoois triterpénicos dos diversos azeites (Regulamento (CE) N.º 1989/2003)	
Quadro 6.12	226
Resultados obtidos para os Ácidos Gordos.	
Quadro 6.13	228
Valores obtidos e respectivas classificações para os triacilglicerídeos dos diversos azeites (Regulamento (CE) N.º 1989/2003)	
Quadro 6.14	230
Valores obtidos para os polifenóis, azeites (Regulamento (CE) N.º 1989/2003)	
Quadro 6.15	232
Valores obtidos para os tocoferóis, azeites.	
Quadro 6.16	234
Valores obtidos para as ceras, azeites (Regulamento (CE) N.º 1989/2003)	
Quadro 6.17	236
Valores obtidos para os álcoois alifáticos, azeites (Regulamento (CE) N.º 1989/2003)	
Quadro 6.18	239
Análise de comparação ANOVA, teste de Tukey para os vários esteróis e álcoois triterpénicos, para a variedade Carrasquenha, para a interacção Ano*Extracção.	
Quadro 6.19	241
Análise de comparação ANOVA, teste de Tukey para os vários esteróis, para a variedade Cobrançosa, para a interacção Ano*Extracção.	
Quadro 6.20	243
Análise de comparação ANOVA, teste de Tukey para os vários esteróis e álcoois triterpénicos, para a variedade Galega Vulgar, para a interacção Ano*Extracção.	

Quadro 6.21	269
Áreas relativas médias (em função do PI) para a análise geral dos compostos voláteis, identificados nas amostras de azeite em estudo (n=9), para o ano de 2004, para GC-MS.	
Quadro 6.22	270
Caracterização dos compostos do ponto de vista sensorial encontrados nos azeites analisados, por cultivar	
Quadro 6.23	272
Análise Anova para todos os compostos, para o ano de 2004 resultante da comparação dos dois métodos de extracção ($p \leq 0,05$, diferenças significativas).	
Quadro 6.24	277
Soma das áreas para cada quadrante para todos os azeites analisados.	
Quadro 6.25	278
Valores obtidos para cada quadrante para todos os azeites analisados, após a utilização do <i>software</i> ImageJ.	
Quadro 6.26	279
Valores obtidos para cada quadrante para todos os azeites analisados, após a utilização do <i>software</i> ImageJ, <i>RGB</i> , para a cor <i>Red</i> - Vermelha.	
Quadro 6.27	280
Valores obtidos para cada quadrante para todos os azeites analisados, após a utilização do <i>software</i> ImageJ, <i>RGB</i> , para a cor <i>Green</i> - Verde.	
Quadro 6.28	281
Valores obtidos para cada quadrante para todos os azeites analisados, após a utilização do <i>software</i> ImageJ, <i>RGB</i> , para a cor <i>Blue</i> - Azul.	

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a expressão do olival na região do Alentejo tem-se acentuado, sendo uma parte muito considerável implementada, por investidores espanhóis, que trazem com eles as suas variedades. O impacto desta enorme implantação de novos olivais pode, pelas razões expostas, contribuir para a descaracterização do azeite “Português”.

À defesa das variedades nacionais, associada à contribuição que este factor pode ter no mercado global, acresce a necessidade científica de conhecer cada vez melhor essas variedades. Impõem-se estudos que permitam aprofundar esse mesmo conhecimento, suprimindo a necessidade crescente de técnicos que estejam à altura dos desafios que se vão impondo.

A tudo isto alia-se a necessidade de considerar a utilização de processos de extracção de azeite que sejam mais expeditos, do ponto de vista funcional (extracção por decanter horizontal “duas fases”) a que se associa o factor económico.

Estes foram factores determinantes que levaram a que tentássemos avaliar, o impacto da utilização desta tecnologia na extracção de azeites provenientes de azeitonas de variedades portuguesas. Torna-se imperativo definir eventuais benefícios, para a melhoria da qualidade, recorrendo-se para tal ao estudo das matérias primas e do produto final, e da comparação dos azeites obtidos por este método com os obtidos pelo método de extracção por prensagem.

Ao surgir a oportunidade de realizar este trabalho numa área pouco explorada na Universidade de Évora o desafio foi, naturalmente, muito aliciante.

Tendo em linha de conta estes factores impunha-se:

- Determinar as características dos azeites obtidos pelo método de prensas, (que no início dos trabalhos era o de expressão mais significativa na região do Alentejo).
- Comparação do método de prensas com o de centrifugação horizontal (decanter “duas fases”, método mais utilizado na nova geração de lagares).
- Caracterização dos azeites obtidos pelos dois métodos.
- Caracterização específica dos compostos do aroma bem como caracterização sensorial dos azeites obtidos pelos dois sistemas de extracção.
- Abordagem de um método hábil, que facilite o reconhecimento do azeite e a sua comparação com outros azeites.

No fundo pretendia-se por um lado comparar a tecnologia dominante com outra considerada mais expedita, e por outro, facilitar a caracterização dos azeites e os seus processos de controlo e certificação.

CAPÍTULO I
O AZEITE E OS MÉTODOS DE
EXTRACÇÃO

1.1. Azeite e a sua história

Os primeiros vestígios arqueológicos em Portugal retratam a origem da oliveira, a épocas correspondentes ao Neolítico e à Idade do Bronze.

De uma maneira mais ou menos cronológica, pode-se dizer que o cultivo da oliveira se iniciou há cerca de 6000 anos, onde actualmente se encontram a Síria, Líbano e Israel (Brothwell *et al.*, 1969). É, no entanto, em Creta que se pode ter maior testemunho arqueológico da importância do azeite. O azeite foi um elemento fundamental na economia cretense.

Segundo Saramago (1997), deve-se ao antigo império romano a actual zona de produção olivícola situada na orla mediterrânea, assim como a sua ligação à alimentação.

A importância da oliveira vem também referida na mitologia (Encyclopedia Mythica, 2008) na qual é referido como: “*Minerva possuía as propriedades da oliveira e Júpiter considerou esta árvore a oferenda mais valiosa devido às suas propriedades alimentares e medicinais*”. Também as “Sagradas Escrituras” são fonte rica de referências sobre os usos religiosos e culinários das azeitonas e do azeite: o “Óleo da Santa Unção” (Sagradas Escrituras, Velho Testamento - Êxodo 30:31) preparava-se com azeite; entre as oferendas de “Acção de Graças” ao Senhor, constavam “...com o sacrificio de acção de graças, oferecerá bolos ázimos amassados com azeite; e coscorões ázimos amassados com azeite; e os bolos amassados com azeite serão fritos...” (Sagradas Escrituras, Velho Testamento - Levítico 7:12).

Pode-se concluir que a utilização do azeite e do fruto que o origina, a azeitona, se reporta aos primórdios da nossa civilização.

Na civilização moderna reconhece-se, quando se fala do azeite, a sua qualidade nutricional, a nível da alimentação lipídica. A identificação dos constituintes desta fase lipídica tal como, mais recentemente, a de outros compostos que compõem o azeite, tem-se revelado de importância fundamental a nível nutricional.

1.2. O azeite

O azeite é definido como a gordura sintetizada naturalmente nas azeitonas, obtida exclusivamente por processos mecânicos e físicos, em condições essencialmente térmicas, que não produzam a sua alteração (Regulamento (CE) N.º 1989/2003).

A extracção do azeite, é uma das indústrias agrícolas mais tradicionais da região mediterrânea, de importância primordial para a economia rural da maioria dos países desta região. A União Europeia é o principal produtor e consumidor mundial, produzindo cerca de 80 % e consumindo cerca de 70 % do azeite mundial (Gouveia, 1995; Leguen De Lacroix - European Commission Directorate-General for Agriculture, 2003).

Também em Portugal, a olivicultura é um exercício de grande importância na actividade económica, social e ambiental. Existe olival em 36% das explorações agrícolas, sendo o azeite uma actividade económica essencial para a manutenção da actividade agrícola, em várias regiões desfavorecidas de Portugal, contribuindo para reduzir a desertificação dessas zonas (inFoco, 2000).

Desde cedo, os portugueses, na boa tradição mediterrânea, adoptaram o azeite como a sua gordura, aproveitando as características do clima e dos solos para o produzir, com qualidade, em quase todos os cantos do território. O azeite entrou há longa data, nos nossos hábitos de consumo, sem olhar a classes sociais ou estilos de vida, impondo-se como um elemento indispensável em qualquer mesa.

Nos últimos anos têm sido feitas várias investigações relacionadas com os benefícios do consumo de azeite. O azeite tem-se revelado cada vez mais importante, na dieta alimentar, mostrando-se um complemento nutritivo de excepcional interesse. O consumo moderado de azeite, particularmente durante as refeições, é reconhecido como trazendo grande benefício para a saúde (Conferência Internacional sobre o efeito do Azeite Virgem na Saúde, realizada em 2004, Jaén, Espanha *in* Azeite de Oliva Espanhol, 2005).

O controlo de qualidade do azeite, entendido no âmbito mais geral e nas noções mais específicas do seu conceito, é hoje uma realidade em todos os países produtores e consumidores, em todas as regiões oleícolas, para todos os tipos de

azeite, de forma a evitar a comercialização de azeites alterados e impróprios para consumo.

A qualidade do azeite é determinada, não só pela análise sensorial (prova); como também de acordo com as exigências e regulamentações estritas de cada mercado, para determinados parâmetros. Uma larga gama desses factores são quantificáveis. O controlo de qualidade engloba múltiplas análises: química, físicas e sensoriais, através das quais se caracterizam os diversos parâmetros que permitem assegurar a qualidade do produto.

Verificando-se cada vez mais a globalização do mercado, e a necessidade de fazer a diferença entre os diversos produtos agrícolas, é frequente recorrer-se à produção de produtos tradicionais, tendo em conta as suas características e critérios de qualidade específicos. A produção de azeites monovarietais, com as cultivares específicas de cada região, e o aparecimento dos azeites de Denominação de Origem Protegida (DOP), têm vindo a adicionar novos factores diferenciadores.

Apesar da análise de alimentos ser importante na determinação do valor nutricional, qualidade dos produtos, monitorização de aditivos alimentares e contaminantes tóxicos, verifica-se que o aroma e o paladar são os critérios de qualidade mais importantes, tanto em produtos frescos como em produtos processados, tornando-se assim cruciais para a aceitação dos mesmos por parte do consumidor (Fenaroli, 1971). As características sensoriais, juntamente com aspectos nutritivos, são as razões principais para o incremento do consumo do azeite virgem nos anos mais recentes (IOOC, 2007).

Os factores que podem afectar, ou mesmo alterar a qualidade do azeite são, principalmente, o estado de maturação que contribui com cerca de 30%; a variedade com 20%; a colheita com 5%; o transporte, armazenamento e moenda com 15%, a tecnologia de extracção com 30% (Boskou, 1996). Considera-se relevante, tendo em consideração as características específicas das cultivares nacionais, o estudo dos métodos de extracção (tecnologia) com o intuito de determinar, qual contribui melhor para a manutenção da especificidade das características do azeite de cada uma das cultivares estudadas. O objectivo deste trabalho foi o estudo da influência dos métodos da extracção de azeite para algumas das cultivares portuguesas, com especial interesse para as cultivares responsáveis pela produção de azeite sob a classificação de Denominação Origem Protegida (DOP).

1.2.1 - Composição química do azeite

Tal como referido anteriormente, a composição química do azeite varia consideravelmente, dependendo da variedade da azeitona, do seu grau de maturação, das condições ambientais, da região, das técnicas de processamento e do armazenamento (Di Giovacchino *et al.*, 1994; Almela *et al.*, 2000).

Quimicamente, o azeite é constituído por triacilgliceróis, ácidos gordos, hidrocarbonetos, álcoois, esteróis, ceras, pigmentos, vitaminas lipossolúveis, compostos fenólicos e voláteis (principais responsáveis pelo aroma). De acordo com as suas propriedades químicas, estas substâncias dividem-se em 2 fracções:

- Fracção saponificável (98%) (insolúvel na água), composta por triacilgliceróis responsáveis pela viscosidade e densidade do azeite e pelos ácidos gordos livres;
- Fracção insaponificável (2%) (solúvel na água) composta pelos restantes componentes dos azeites.

Sendo a qualidade dos produtos prioritária, e não fugindo o azeite a esta regra, foram estabelecidas normas comerciais e alimentares que vão garantir ao consumidor um produto de qualidade, favorecendo assim a repressão de fraudes, a eliminação de adulterações e a precisão das denominações a inscrever nas embalagens (Gouveia, 1995).

A composição química é determinante para classificar o azeite comercialmente. O azeite para consumo humano pode ser classificado em três categorias (para a análise sensorial e o para a acidez; Regulamento (CE) N.º 1989/2003):

- Azeite Virgem Extra - avaliação organoléptica mediana dos defeitos (Md) igual a 0 e avaliação organoléptica mediana do frutado (Mf) maior que zero e cuja acidez livre, expressa em ácido oleico, é no máximo de 0,8 %.
- Azeite Virgem - avaliação organoléptica mediana dos defeitos (Md) menor ou igual a 2,5 e avaliação organoléptica mediana do frutado (Mf) maior que zero e cuja acidez livre, expressa em ácido oleico, é no máximo de 2,0 %.
- Azeite - contém azeite refinado e azeite virgem com acidez livre, expressa em ácido oleico, inferior ou igual a 1,0 %.

Considerando as classificações mencionadas no Regulamento (CEE) N.º 2568/91 (em vigor no início deste trabalho), para a análise sensorial, a classificação é a seguinte:

- Azeite Virgem Extra - azeite virgem com pontuação organoléptica igual ou superior a 6,5.
- Azeite Virgem - azeite virgem com pontuação organoléptica igual ou superior a 5,5.
- Azeite virgem Corrente - azeite virgem com pontuação organoléptica igual ou superior a 3,5.
- Azeite virgem lampante - azeite virgem com pontuação organoléptica menor que 3,5.

Para além da acidez e das características organolépticas, outros critérios de qualidade e genuinidade são reconhecidos e utilizados. Estes critérios têm como base a norma comercial do Conselho Oleícola Internacional (COI) e os regulamentos da União Europeia.

1.2.1.1. Fracção saponificável

Tal como na maioria dos óleos vegetais, a fracção saponificável do azeite representa mais de 97%. Muitas características (químicas, físicas e metabólicas) dependem da composição desta fracção: acilgliceróis, predominantemente triacilgliceróis e ácidos gordos livres.

A principal característica do azeite é o elevado teor em ácidos gordos monoinsaturados, presentes em proporções que variam entre 55 e 80 % do total dos ácidos gordos. Os ácidos gordos polinsaturados representam 4 a 20 % e os ácidos gordos saturados 5 a 15 % do total (Gouveia, 1995).

Os principais ácidos gordos do azeite são: oleico (C18:1) (predominante), linoleico (C18:2) (um dos ácidos gordos essenciais), palmítico (C16:0), palmitoleico (C16:1) e esteárico (C18:0).

A composição qualitativa, em ácidos gordos, dos diversos azeites mantém-se constante, apenas variando a percentagem entre eles (quadro 1.2), devido a factores

como a variedade, a localização geográfica (quadro 1.1), a altitude, as condições climáticas e o período de colheita, principalmente.

Quadro 1.1

Composição de ácidos gordos no azeite, expressos em percentagem do total dos ácidos gordos em diferentes países (Grancián Tous, 1968)

País Produtor	Número de Amostras Analisadas	Ácido Oleico	Ácido Linoleico	Ácido Palmitoleico	Ácido Palmítico	Ácido Esteárico
<i>Grécia</i>	3000	57,6-93,5	1,6-23,6	0,5-2,3	7,5-16,0	1,4-3,8
<i>Itália</i>	733	64,1-85,0	1,0-15,0	0,2-5,5	7,1-17,5	0,3-3,4
<i>Espanha</i>	75	65,3-79,6	5,1-19,8	-	-	-
<i>Argentina</i>	40	54,0-79,1	5,3-22,7	0,2-3,4	9,8-20,0	0,3-2,9
<i>Tunísia</i>	21	55,2-70,6	9,5-20,1	1,0-2,2	13,9-21,1	1,3-2,5
<i>Portugal</i>	140	69,0-86,0	3,0-14,0	-	-	-

(-) - Não determinado

Quadro 1.2

Composição de ácidos gordos do azeite, estabelecida pelas normas alimentares internacionais recomendadas pela Organização para a Agricultura e Alimentação (FAO) e pela Organização Mundial de Saúde (OMS) - valores médios.

Composição de ácidos gordos (% m/m ésteres metílicos)	
Ácido Oleico	56,0-83,0
Ácido Palmítico	7,5-20,0
Ácido Linoleico	3,5-20,0
Ácido Esteárico	0,5-3,5
Ácido Palmitoleico	0,3-3,5
Ácido Linolénico	0,0-1,5
Ácido Mirístico	0,0-0,05
Ácido Araquídico	+
Ácido Bénico	+
Ácido Galodeico	+
Ácido Lignocérico	+
Ácido Erúico	*
Ácido Láurico	*

+ - Quantidades detectadas muito pequenas.

* - Não se apresentam quantidades perceptíveis.

Tomando como base a composição em ácidos gordos do azeite, podemos considerar dois tipos de azeites: o primeiro, com baixo teor de ácido linoleico e palmítico e alto teor em ácido oleico, e um segundo, com um conteúdo relativamente alto de ácido linoleico e palmítico e baixo teor em ácido oleico (Christakis, 1996). As regiões mais quentes têm tendência a ter um teor de ácido linoleico mais elevado do que os azeites do norte provenientes de regiões mais frias (Wahlquont, 1997).

O ácido linoleico estimula o crescimento da criança, evita a degenerescência gorda do fígado, protege a pele mas, sobretudo, faz diminuir a taxa de colesterol no sangue. O corpo humano não é capaz de sintetizar o ácido Ω -6-linoleico (18:2n-6) e o ácido Ω -3-linolénico (18:3n-3), necessários numa quantidade significativa para prevenir uma manifestação de carência. Por outro lado, o azeite fornece uma quantidade pequena, mas suficiente, destes ácidos (Wahlquont, 1997).

1.2.1.2. Fracção insaponificável

Esta fracção tem um papel fundamental para o valor biológico e nutricional do azeite, pelas características organolépticas e pela resistência à oxidação, que confere.

A fracção insaponificável do azeite é constituída por componentes menores, representa 0,5 a 1,5% do peso total, e compreende: hidrocarbonetos, esteróis (principalmente o β -sitosterol), ceras, álcoois (que exercem actividade antioxidante), pigmentos carotenóides, vitaminas, tocoferóis, polifenóis e substâncias voláteis (Gouveia, 1995). A fracção insaponificável contém vitamina E, entre outros antioxidantes e elementos não nutritivos, que são encontrados em maior quantidade no azeite virgem (quadro 1.3).

Quadro 1.3
Composição da fracção insaponificável do azeite

	Azeite virgem %	Óleo de bagaço de azeitona bruto %
Hidrocarbonetos (esqualeno)	30-50	12-20
Esteróis	15	25
Álcoois Triterpénicos	10	10
Álcoois Gordos Superiores	-	15
Pigmentos Carotenóides, Tocoferóis, Antioxidantes, compostos voláteis e outros.	25-45	35

(-) - Não especificados.

A concentração dos compostos que fazem parte da fracção insaponificável varia segundo o grau de maturação das azeitonas, a situação geográfica do olival e a variedade da azeitona.

Os hidrocarbonetos, saturados e insaturados, ramificados e lineares, são os constituintes principais da fracção insaponificável (30 a 50%) (quadro 1.3), resultando do metabolismo natural, provavelmente, como produtos colaterais durante a síntese dos ácidos gordos. O seu conteúdo depende da variedade da azeitona de que o azeite provém, sendo maior nas azeitonas verdes do que nas maduras. Nesta classe destacam-se, em termos quantitativos, os terpenos, cujos principais representantes no azeite são o esqualeno e o caroteno (Gouveia, 1995). O esqualeno tem influência a nível metabólico, uma vez que é um precursor bioquímico de esteróis e de álcoois triterpénicos, e participa nos mecanismos de auto-oxidação que conduzem à estabilidade do azeite. Os carotenóides dividem-se em duas classes, carotenos e xantofilas, que conferem cores aos alimentos de origem vegetal. O β -caroteno precede a vitamina A com propriedades antioxidantes (Wahlquont, 1997). Quatro pigmentos, as clorofilas *a* e *b* e as feofitinas *a* e *b*, oxidam-se na presença da luz, actuando como antioxidantes na sua ausência. Como o conteúdo de clorofila oscila entre 0 e 9,7 ppm, o azeite virgem oxida-se facilmente sendo muito sensível à luz (Vitagliano *et al.*, 1960).

O esteróis representam cerca de 15% da fracção insaponificável (quadro 1.3), sendo o seu principal representante o β -sitosterol. A sua concentração vai diminuindo

com o decurso da maturação. Outros esteróis presentes no azeite são o colesterol estigmasterol, campesterol, o β -sitosterol (aparente) (Soma de: Δ -5,23-estigmastadienol + clerosterol + β -sitosterol+Sitostanol + Δ -5-avenasterol + Δ -5,24-estigmastadienol) e o Δ -7estigmaesterol.

Os antioxidantes (sendo a forma mais activa do ponto de vista biológico, a forma α) impedem a rancidez provocada por microrganismos, ar, humidade, calor e metais, tais como o cobre, o níquel, o ferro e o zinco. Dentro dos tocoferóis, pode-se destacar o α -tocoferol (que previne a oxidação e a polimerização do azeite). Os azeites virgens e refinados contém aproximadamente 137-297mg de tocoferóis por kg. Nos azeites armazenados estes valores baixam para 28-55 mg/kg aproximadamente. Outros componentes importantes dentro desta família de antioxidantes são os esteróis: β -sitosterol e estigmasterol.

1.2.1.2.1. O aroma do azeite

O aroma do azeite é resultado de uma mistura complexa de vários compostos. A formação destes compostos dá-se principalmente nos cloroplastos. Quando a membrana lipoproteica, que cobre as gotas de azeite, entra em contacto com os cloroplastos, os compostos voláteis ligam-se ao substrato lipídico. Estes compostos têm vindo a ter cada vez maior impacto na apreciação da “qualidade”. Já foram identificados mais de 150 compostos voláteis (Segovia De Arana, 1975; Vichi *et al.*, 2003, Angerosa *et al.*, 2004; Kalua *et al.*, 2007; Haddada *et al.*, 2007), que conferem ao azeite o seu aroma característico, permitindo assim uma grande heterogeneidade de azeites oferecidos ao mercado. Mais a frente aprofundámos este tema (1.6.2.13. Compostos voláteis do azeite).

1.3. Caracterização das variedades das azeitonas estudadas

Entre as cultivares mais importantes em Portugal estão: Galega Vulgar, Carrasquenha, Cordovil, Cobrançosa e Verdeal (Instituto Nacional de Estatística, 2005), que possuem características diferentes (Leitão *et al.*, 1986).

Neste trabalho estudados as variedades Galega Vulgar, Carrasquenha e Cobrançosa.

1.3. 1. Galega Vulgar

Características da árvore e dos ramos

Porte médio ou grande; arborescência mediana; ramificação curta; ramos rugosos, acinzentados.

Características das folhas

Folhas grandes; compridas e largas; planas; de consistência flácida ou média; ângulo apical médio ou aberto e ângulo basal médio.

Características das inflorescências e flores

Inflorescências de comprimento médio; número de flores por inflorescência mediano ou abundante; botões florais de tamanho pequeno; com flores supranumerárias.

Características dos frutos e endocarpos

Fruto pequeno, elipsoidal, de diâmetro máximo na parte mediana; forma apical arredondada ou pontiaguda, de vértice não saliente; forma basal arredondada ou truncada; cavidade peduncular pequena, circular e pouco profunda.

Epicarpo violáceo na viragem e negro na maturação, com pruína; lentículas não visíveis.

Mesocarpo de consistência branda, não aderente ao endocarpo.

Endocarpo pequeno, elipsoidal, de diâmetro máximo na parte mediana; forma apical pontiaguda, sem mucrão ou mucrão ligeiro; forma basal arredondada ou aguda; superfície lisa e linha de sutura com sulco pouco evidente.

Aspectos gerais e características agronómicas

É a cultivar mais difundida no País, apresentando grande rusticidade e acentuada tendência para a alternância ou irregularidade da produção nas regiões litorais.

Mediana capacidade de propagação por estaca herbácea e boa por estaca lenhosa. Porta-enxerto com boa afinidade para quase todos os cultivares.

Atreita à tuberculose, cochonilha e fumagina; susceptível à gafa e ao ataque de mosca da azeitona; raízes com notável resistência ao ataque do *Verticillium*.

Certa resistência do fruto ao desprendimento, mas queda acentuada no fim da maturação. Pouco apropriada à colheita por vibração.

Fruto próprio para a conserva em preto, industrial e caseira.

Apresenta fraco ou médio rendimento em azeite, pobre em ácido linoleico.

1.3.2. Carrasquenha

Características da árvore e dos ramos

Porte pequeno ou médio; arborescência amoitada; ramificação de comprimento médio ou curto; ramos de rugosidade mediana, acinzentados esverdeados.

Características das folhas

Folhas grandes ou médias; compridas e largas; planas ou onduladas; de consistência flácida ou média; ângulo apical aberto e ângulo basal médio ou aberto.

Características das inflorescências e flores

Inflorescências de comprimento médio; número de flores por inflorescência mediano ou abundante; botões florais de tamanho pequeno; sem flores supranumerárias.

Características dos frutos e endocarpos

Fruto médio ou grande, elipsoidal, de diâmetro máximo na parte mediana; forma apical arredondada, de vértice não saliente; forma basal truncada; cavidade peduncular ampla, circular, medianamente profunda.

Epicarpo avermelhado na viragem e avermelhado ou vermelho escuro na maturação, com ou sem pruína; lenticulas muito visíveis, abundantes, pequenas e grandes.

Mesocarpo de consistência rija, aderente ao endocarpo.

Endocarpo grande, ovóide ou elipsoidal, de diâmetro máximo na parte mediana ou deslocado para o ápice; forma apical arredondada, com mucrão evidente; forma basal truncada ou aguda; superfície muito rugosa e linha de sutura com sulco pouco evidente.

Aspectos gerais e características agronómicas

Cultivar Alentejana bastante produtiva e que frutifica com certa regularidade; adapta-se a diversos tipos de solo, mas não suporta terrenos muito húmidos.

Baixa capacidade de propagação por estaca herbácea e média por estaca lenhosa, sendo geralmente enxertada em Galega ou Conserva de Elvas.

Pouco susceptível aos ataques de gafa e resistência à mosca.

Certa resistência do fruto ao desprendimento, e queda reduzida. Apropriada à colheita por vibração, na fase de completa maturação.

Fruto próprio para a conserva em verde, industrial e caseira.

Apresenta bom rendimento em azeite, de mediana riqueza em ácido linoleico.

1.3.3. Cobrançosa

Características da árvore e dos ramos

Porte pequeno ou médio; arborescência amoitada ou mediana; ramificação de comprimento médio; ramos de rugosidade mediana ou lisos, acinzentados esverdeados e quebradiços.

Características das folhas

Folhas pequenas; compridas e estreitas; com rebordo encurvado ou planas; de consistência flácida ou média; ângulo apical fechado e ângulo basal fechado.

Características das inflorescências e flores

Inflorescências de comprimento médio ou curto; número de flores por inflorescência mediano; botões florais de tamanho pequeno; sem flores supranumerárias.

Características dos frutos e endocarpos

Fruto médio, elipsoidal, de diâmetro máximo na parte mediana; forma apical pontiaguda ou arredondada, de vértice não saliente ou com mamilo; forma basal truncada ou arredondada; cavidade peduncular pequena, circular, medianamente profunda.

Epicarpo avermelhado na viragem, vermelho escuro ou negro na maturação, com ou sem pruína; lentículas pouco visíveis, abundantes, pequenas.

Mesocarpo de consistência rija, aderente ao endocarpo.

Endocarpo grande, alongado ou elipsoidal, de diâmetro máximo na parte mediana; forma apical pontiaguda, com mucrão evidente; forma basal mamilar; superfície rugosa e linha de sutura com sulco medianamente evidente.

Aspectos gerais e características agronômicas

Cultivar Transmontana bastante regular e produtiva, vocacionada para a produção de azeite.

Mediana a boa capacidade de propagação por estaca herbácea.

Pouco susceptível a doenças da folhagem e acidentes climatéricos.

Baixa resistência do fruto ao desprendimento, mas queda reduzida. Muito apropriada à colheita por vibração.

Fruto não utilizado normalmente para a conserva.

Apresenta bom rendimento em azeite, de mediana riqueza em ácido linoleico.

1.4. As zonas de produção dos Azeites do Alentejo

As zonas de produção dos Azeites do Alentejo repartem-se em 3 grandes áreas, coincidentes com as Denominações de Origem Protegida (figura 1.1):

- Azeite do Norte Alentejano;
- Azeite de Moura;
- Azeite do Alentejo Interior.

A área geográfica de produção (localização dos olivais, extracção do azeite e acondicionamento) do **Norte Alentejano**, está circunscrita aos concelhos de Alter do Chão, Arronches, Avis, Borba, Campo Maior, Castelo de Vide, Crato, Estremoz, Elvas, Fronteira, Marvão, Monforte, Redondo, Portalegre, Sousel, Vila Viçosa, Alandroal, Nisa e Reguengos de Monsaraz e às freguesias de Nossa Senhora de Machede, São Mansos, São Vicente do Pigeiro, São Miguel de Machede e São Bento do Mato do concelho de Évora e às freguesias da Luz e Mourão do concelho de Mourão (Regulamento (CE) nº. 708 de 2005).

A área geográfica de produção do **Alentejo Interior** encontra-se naturalmente circunscrita à totalidade dos concelhos de Portel, Vidigueira, Cuba, Alvito, Viana do Alentejo, Ferreira do Alentejo e Beja e, ainda, às freguesias de Aljustrel, S. João de Negrilhos e Ervidel do concelho de Aljustrel, Entradas do concelho de Castro Verde, Alcaria Ruiva do concelho de Mértola e Torrão do concelho de Alcácer do Sal. O conjunto destes concelhos e freguesias é normalmente conhecido por Alentejo Interior (Regulamento (CE) nº. 510 de 2006).

A área geográfica de produção do Azeite de **Moura** abrange as freguesias de Amareleja, Póvoa de S. Miguel, S. João Baptista, S. Agostinho, S. Amador, Safara, S. Aleixo da Restauração e Sobral da Adiça, do concelho de Moura; as freguesias de Pias, Vale de Vargo, Vila Verde de Ficalho, Brinches, S. Maria, Salvador e Vila Nova de S. Bento, do concelho de Serpa e a freguesia da Granja, do concelho de Mourão (Regulamento (CE) nº. 1107 de 1996; CEPAAL, 2005).

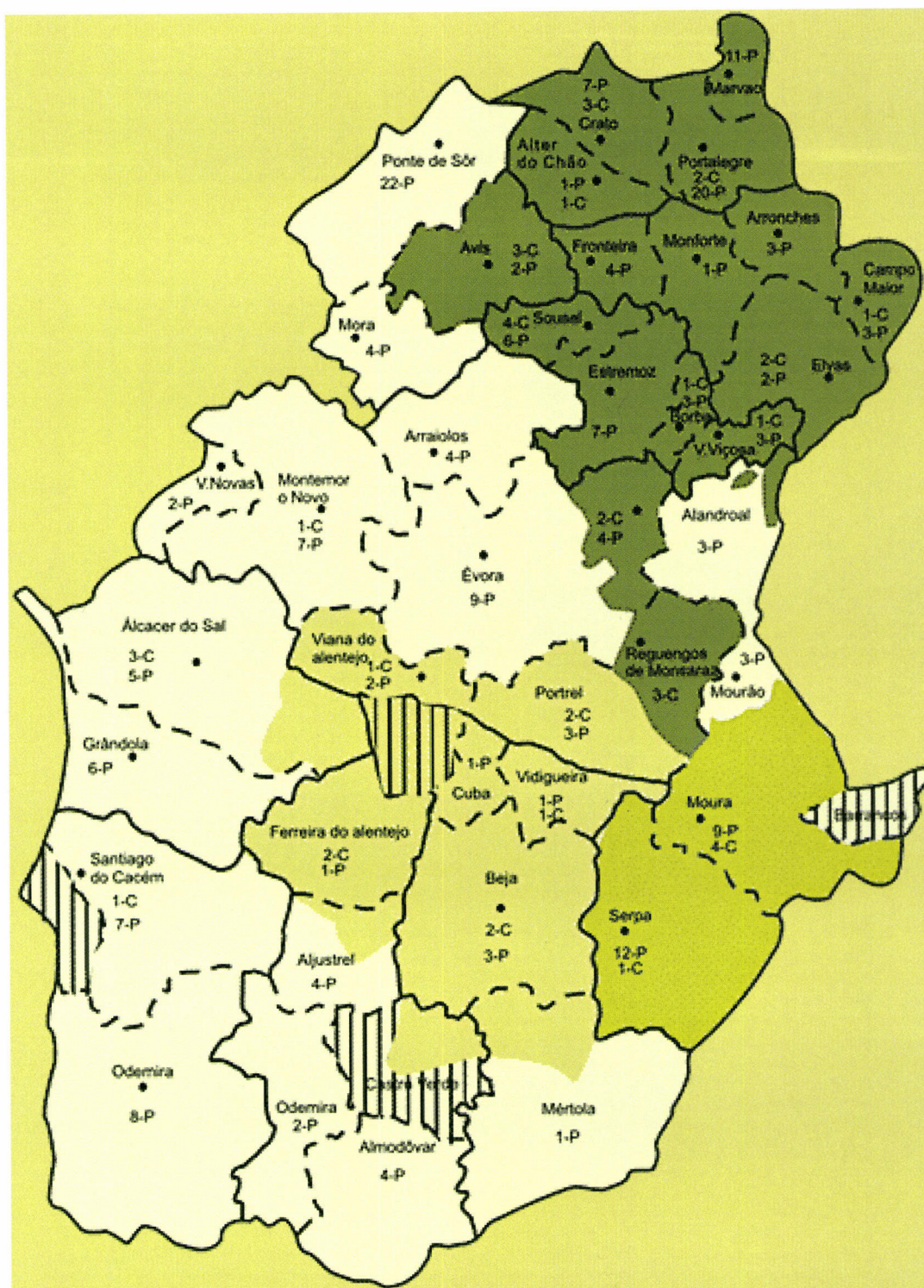


Figura 1.1

A área geográfica de produção do Azeite do Norte Alentejo, Moura e Alentejo Interior. Fonte: CEPAAL, 2005

- Azeite do Norte Alentejano (Regulamento (CE) n.º. 708 de 2005)
 - Azeite de Moura (Regulamento (CE) n.º. 1107 de 1996)
 - Azeite do Alentejo Interior (Regulamento (CE) n.º. 510 de 2006)
- P - Lagares de prensas C - Lagares contínuos**

Na figura 1.1 é possível verificar a relevância que na região tinha, à data, a extracção por prensas.

1.5. Tecnologia de Extracção

1.5.1. A história

Tecnologicamente, o azeite diferencia-se dos outros óleos vegetais por ser extraído por processos físicos e mecânicos, em condições que não produzam alteração química, podendo por isso ser, de imediato, comestíveis, enquanto todos os outros óleos, têm de ser refinados para poderem ser consumidos.

Para se obter um azeite de qualidade deve partir-se de azeitonas inteiras, íntegras, sãs e maduras.

A tecnologia de extracção associada ao azeite, tem milhares de anos desde os primórdios da “indústria caseira”, em que eram utilizadas peças rudimentares para a extracção do sumo da azeitona. Na Ásia Menor, foram descobertos vestígios de instalações de produção de azeite e fragmentos de vasos datados do início da Idade do Bronze (Saramago, 1997; Gouveia *et al.*, 2002).

Segundo alguns autores (Saramago, 1997; Gouveia *et al.*, 2002), os primeiros processos de extracção do azeite não partiam o caroço, e apenas obtinham uma pasta de azeitona da qual se extraía o azeite. Esta era introduzida num “saco” e batia-se numa selha, através da introdução de uma vara de cada lado, o saco era torcido e assim o azeite extraído (2600 *a.c.*). Um método semelhante conhecido como “saquilhada” era utilizado no nosso país, nomeadamente no Algarve no séc. XVI.

São originários do Médio Oriente processos mais eficazes na laboração de maiores quantidades de azeitona, tais como a utilização de rolos cilíndricos em pendentes rochosas. Estes esmagavam a azeitona e o líquido escorria para um recipiente também ele talhado na rocha. Depois chegou-se aos moínhos de mós. Estes deram origem às galgas cilíndricas e depois às tronco cónicas, algumas delas chegando até aos nossos dias.

As prensas de cunha, usadas desde o séc. I *a.C.*, chegaram até hoje em alguns lagares do Magrebe.

As ruínas dos lagares, pesos de prensas e vestígios de fornos cerâmicos de ânforas oleárias constituem provas convincentes do fabrico do azeite no Alentejo romano.

Os capachos feitos a partir de fibras naturais nos seus primórdios e de fibras sintéticas hoje em dia, para facilitar a higienização, foram introduzidos para permitir uma melhor extracção do líquido após o esmagamento.

No início do século XX, com a introdução de prensas hidráulicas, houve um aumento acentuado no rendimento de extracção.

1.5.2. Actualidade

Actualmente, a produção de azeite ronda segundo dados da *Food and Agriculture Organisation* (FAO, 2003), 2 500 000 t/ano.

De todos os países produtores de azeite, a Espanha é a maior produtora com cerca de 1 020 400 t/ano, média dos últimos 5 anos (*Agencia para el Aceite de Oliva*, 2007). Portugal tem uma produção média anual, entre 2000 e 2007, de 32 100 t/ano de azeite (INE, 2008).

A composição média da azeitona é a seguinte (Barranco *et al.*, 2001): água 50%; azeite 22%; proteína 1,6%, glúcidos 19,1%; celulose 5,8%; cinzas 1,5%.

A azeitona é composta por polpa (70–90%), caroço (9–27%) e semente (2–3%) para o total do seu peso (Sansoucy *et al.*, 1985; Hermoso *et al.*, 1998). Os dois principais constituintes da azeitona (água e azeite), estão concentrados na polpa e semente.

A tecnologia de extracção na península Ibérica, com especial ênfase em Espanha, progrediu de forma mais significativa desde o começo dos anos setenta, quando o sistema de centrifugação de “três fases” apareceu. Nesta tecnologia, o azeite, a água da vegetação e o bagaço da azeitona podem ser separados num processo contínuo. O sistema descontínuo tradicional (por prensas) foi abandonado, em grande parte. O inconveniente principal, do sistema contínuo, por centrifugação, de “três fases” é a produção, durante um período curto do ano (Novembro - Fevereiro), de

grandes quantidades de águas russas, que são um líquido muito poluente, originário da água de vegetação da azeitona adicionada à água introduzida nas diferentes etapas da produção do azeite.

A tecnologia de 3 fases foi, por exigências ambientais, gradualmente menos viável. Nos anos noventa surge um sistema difásico de centrifugação. Embora este sistema seja chamado de “ecológico”, porque reduz extremamente a geração de águas russas (por não se proceder à injeção de água, procedimento necessário na centrifugação de três fases) a sua carga contaminadora, produz ainda um subproduto sólido muito húmido que os espanhóis chamam de “*alperujo*” ou “*alpeorujo*”, e que nós designamos por bagaço húmido.

A produção de azeite em Espanha com este novo sistema de centrifugação, representa aproximadamente 75% do total dos sistemas de extracção.

O mercado do azeite e em particular o do azeite virgem extra, exige um produto de alta qualidade, destacando as características típicas das suas áreas de produção e realçando as suas características nutritivas e organolépticas. A cooperação próxima entre fabricantes de máquinas e investigadores da área, permitiram o desenvolvimento de tecnologias inovadoras capazes de melhorarem a taxa de extracção de azeite mantendo a qualidade (Amirante *et al.*, 1987), optimizando o processo da extracção (Amirante *et al.*, 1993), tornando mais eficiente o esmagamento, (Bianchi *et al.*, 1996), desenvolvendo centrifugadoras mais eficientes e com sistemas de poupança de água (Amirante *et al.*, 1993) equipados com sensores e que permitem o ajuste automático dos parâmetros de extracção, como por exemplo as temperaturas (Amirante *et al.*, 2000).

Igualmente a relação entre sistemas de extracção, de produção e de região já foi tema abordado (Salvador *et al.*, 2003 e Torres *et al.*, 2006).

O tipo de extracção utilizado para a obtenção do azeite influencia a concentração de antioxidantes, substâncias que protegem o organismo contra agentes externos e consequentemente na prevenção de doenças, principalmente as cardiovasculares e o cancro.

O azeite virgem extra contém uma maior concentração de antioxidantes do que os azeites sujeitos à refinação. Os principais antioxidantes presentes no azeite são os derivados fenólicos (tirosol e hidroxitirosol), esteróis livres e seus precursores, o esqualeno. O azeite refinado em função de seu processamento perde uma parte desses

micro componentes, mas mantém a mesma composição de ácidos gordos dos azeites virgens (ASOLIVA, 2002).

Os métodos de extracção influenciam de forma muito significativa a qualidade do azeite e têm surgido novas menções facultativas tais como "pressão a frio" ou "primeira pressão a frio" que só podem figurar relativamente aos azeites virgem ou virgem extra obtidos a menos de 27 °C, aquando de uma primeira prensagem mecânica da massa de azeitona, por um sistema de extracção de tipo tradicional com prensas hidráulicas (Regulamento (CE) n.º 1019/2002).

Neste trabalho foram estudados dois métodos de extracção: um sistema que utiliza a tecnologia de centrifugação horizontal continua, denominada de “duas fases” e um sistema de extracção de tipo tradicional com prensas hidráulicas, tendo em conta estas novas realidades atrás mencionadas.

1.5.3. Extracção por prensas

Pode-se descrever um processo típico de extracção por prensas da seguinte forma: moenda da azeitona que consiste na sua transformação em massa (processo comum aos dois processos de extracção em estudo); batedura ou malaxagem, batimento lento e contínuo da massa de azeitona, que permite a coalescência das gotículas, a qual é ainda favorecida pela presença de enzimas, naturalmente presentes nas azeitonas. O grau de coalescência torna-se também mais perceptível à medida que a temperatura da massa aumenta, e está relacionada com o tempo de batedura.

Quando a massa está convenientemente batida, procede-se à extracção propriamente dita, ou seja, à separação da fase sólida (o bagaço) das fases líquidas (o azeite e a água de vegetação). A massa obtida após a moenda é extraída por prensagem. As prensas actuais operam numa pilha (denominado "castelo") de camadas de massa colocadas sobre uma espécie de filtros (os "capachos"). O castelo é sujeito a uma forte pressão hidráulica, que faz libertar o mosto oleoso, fase líquida – azeite e água, que serão separados no processo seguinte, a decantação.

Na decantação, obtida após repouso, o azeite, menos denso, aflora à superfície e a água permanece no fundo dos decantadores.

1.5.4. Extracção por centrifugação, de “duas fases”

O sistema de extracção contínuo por centrifugação de “duas fases” tem sido utilizado desde meados dos anos noventa. A moenda é idêntica à anteriormente descrita, mas a fase de extracção propriamente dita é bastante diferente. Neste processo, o azeite é separado por centrifugação em contínua, obtendo-se apenas azeite e bagaço mais húmido.

1.6. Avaliação qualitativa

Entre as inúmeras definições de qualidade, podemos dizer que um azeite de qualidade será um “sumo”, obtido de frutos saudáveis e frescos, em ideal estado de maturação, evitando-se o tratamento ou manipulação que altere a natureza química de seus componentes, tanto durante a sua extracção como no período do seu armazenamento.

É importante distinguir entre variedades de azeitona e qualidade de azeite. Duas cultivares diferentes de oliveiras dão lugar a diferentes azeites, com cor, odor e sabor distintos e, no entanto, poderão ter uma qualidade equivalente (Regulamento (CE) N.º 1989 de 2003). A qualidade final depende da simbiose de factores, como condições climáticas, tipo de solo, cuidados no processo de extracção e de armazenamento.

O Conselho Oleícola Internacional (COI) (*International Olive Oil Council - IOOC*, 2001) e a Comunidade Económica Europeia (CEE, 1991) definiram a classificação de um determinado azeite baseados em diversos parâmetros.

Num estudo como este torna-se importante caracterizar a qualidade das azeitonas assim como a dos diferentes azeites obtidos após a aplicação das diferentes tecnologias de extracção, tendo em conta diversos parâmetros.

1.6.1. Avaliação qualitativa das Azeitonas

As azeitonas como parte fundamental de um bom azeite, devem ser avaliadas tendo em conta três questões, por um lado o estado de maturação, o teor de gordura e o estado sanitário das azeitonas (controlo de pragas e doenças).

1.6.1.1. A cor da azeitona. Determinação do Índice de Maturação pelo método Jaen

A maturação das azeitonas é um processo que dura vários meses e desenvolve-se de acordo com a geografia, variedade da cultivar, temperatura e práticas agrícolas. Durante a maturação, modificações químicas importantes ocorrem dentro da drupa (endocarpo), que estão relacionadas com a síntese de substâncias orgânicas especialmente triacilglicerídeos e outras actividades enzimáticas (Boskow, 1996), que podem afectar a qualidade do azeite (Montedoro *et al.*, 1986). Com o objectivo de obter um azeite característico, com todo o seu potencial de aroma e sabor é necessário que a colheita dos frutos seja realizada no momento ideal.

Para a caracterização das azeitonas sob ponto de vista de maturação utilizou-se o método de *Estación de Olivicultura y Elaiotecnia*, Jaen, Espanha (Hermoso *et al.*, 1991), que consiste em classificar as azeitonas de acordo com a sua tonalidade exterior e interior.

1.6.1.2. Determinação do teor de gordura, por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear é reconhecidamente a técnica para a investigação a nível molecular. Ocupa um lugar de realce no campo da análise qualitativa e quantitativa, desde componentes em produtos alimentares, por exemplo, a fluidos biológicos e metabolitos em tecidos e órgãos de seres vivos intactos, de um modo não invasivo e não destrutivo, permitindo assim a sua aplicação a amostras de azeitona na determinação da percentagem de gordura na matéria total

(m.o.), assim como a percentagem de humidade nas azeitonas e a percentagem de gordura na matéria seca (m.s.).

1.6.1.3. Avaliação de pragas e doenças

As pragas e doenças que afectam a oliveira e que podem eventualmente alterar a boa estrutura e funcionamento da árvore, são inúmeras. Assim como a árvore, a integridade da azeitona e a consequente qualidade do azeite é directamente influenciada.

Do conjunto de doenças e pragas possíveis, apenas abordaremos aquelas que maior impacto têm tido no olival português: a *Gloeosporium olivarum*, conhecida por “gafa” e a *Bactrocera oleae*, vulgarmente conhecida por “mosca”. A gafa tem particular relevância na faixa litoral, no Ribatejo e em vários concelhos do Alto e Baixo Alentejo, com especial incidência na variedade Galega, que é muito sensível (SaptecAgro, 2007). É a doença da oliveira mais disseminada em Portugal. Observações feitas de 2003 a 2005, em 441 olivais, revelaram sintomas dos fungos que provocam a gafa em 53% dos olivais estudados, sendo a sua presença detectada sobretudo na madeira e folhas mais antigas, e mais raramente nas flores e frutos. Inquietante é também a mosca, que com um Outono mais ameno ataca mais e origina larvas vivas nos frutos. As outras doenças mais comuns são a cercoporiose, a fumagina, o olho de pavão e a tuberculose ou ronha (Talhinhas *et al.*, 2002).

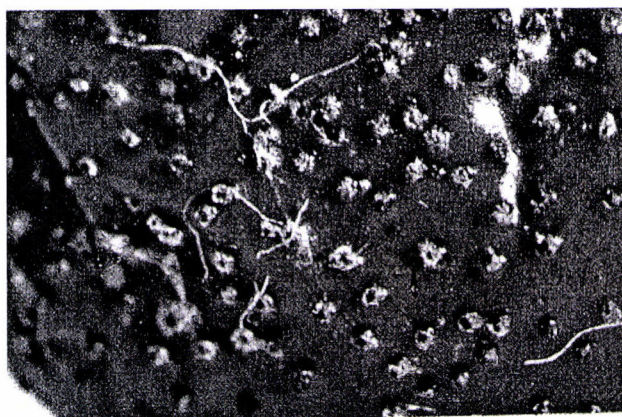


Figura 1.2

Observação com lentes de alta resolução de uma azeitona atacada por gafa (Foto: Adaptação de Barranco *et al.*, 2001).

O ataque por gafa tem influência no azeite produzido, diminuindo-lhe a qualidade e o rendimento, e alterando as características organolépticas.

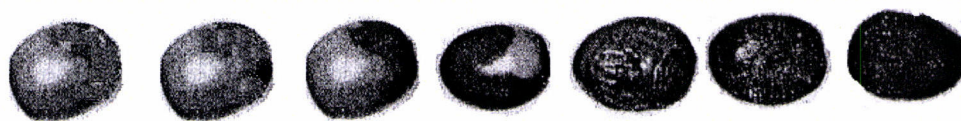


Figura 1.3

Observação da evolução de contaminação de uma azeitona atacada com gafa (Foto: Adaptação de Barranco *et al.*, 2001).

“A mosca” tem maior proeminência nas regiões de Invernos suaves onde hiberna sob a forma adulta ou de pupa enquanto nas restantes regiões apenas sob a forma de pupa. O ovo é depositado na polpa da azeitona, o crescimento da larva faz-se à custa do azeite existente. A larva vai cavando galerias, destruindo a biomenbrana e pondo o azeite em contacto com a água provocando hidrólise dos triacilgliceróis e aumentando a acidez do azeite. As galerias permitem a entrada de oxigénio (O_2) que leva a reacções de oxidação com posterior rancificação, nas galerias as células vão morrendo e vão-se instalando microrganismos saprófitas (leveduras, bactérias e fungos) que provocam modificações de cheiro e sabor.

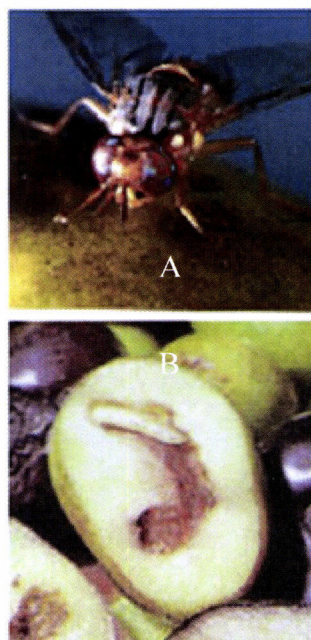


Figura 1.4

Mosca da azeitona (A), larva da mosca da azeitona (B) (Foto: Adaptação de Barranco *et al.*, 2001).

Para a mosca da azeitona é considerado um nível económico de ataque (para se proceder ao tratamento da azeitona) quando se encontram formas vivas do insecto em cerca de 10% dos frutos (Gomes *et al.*, 2003).

1.6.2. Avaliação qualitativa do azeite

A avaliação qualitativa dos azeites tem em conta o Regulamento (CE) N.º 1989 de 2003, o qual, para prosseguir a harmonização com as normas internacionais do Conselho Oleícola Internacional e do *Codex Alimentarius*, reviu, tendo em consideração o conceito de qualidade, certos valores limites relativos às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona anteriormente fixados pelo Regulamento (CEE) n.º 2568/91, para prosseguir.

1.6.2.1. Acidez

A acidez é um factor importante para a classificação do azeite, mas não serve por si só, para indicar a qualidade do produto. A acidez, é gustativamente imperceptível (nos níveis normais regulamentado para os azeites de consumo) mas tende a ser menor quando a qualidade das azeitonas é maior, a data de colheita é a adequada e o processamento das azeitonas, é correcto. Geralmente, os azeites apresentam baixa acidez. É possível encontrar um azeite com grau de acidez baixo, com pouca personalidade, pouco aroma e sabor apagado e ou o contrário, um azeite com acidez um pouco mais alta, mas de presença marcante na boca.

O azeite pode ser classificado relativamente à acidez em (Regulamento (CE) N.º 1989 de 2003): azeite virgem extra com uma acidez livre, expressa em ácido oleico, não superior a 0,8 g por 100 g, azeite virgem com uma acidez livre, expressa em ácido oleico, não superior a 2 g por 100 g; azeite lampante com uma acidez livre, expressa em ácido oleico, superior a 2 g por 100 g.

Tecnicamente, a acidez traduz-se pelo teor de ácidos gordos livres, expresso em percentagem de ácido oleico e pode considerar-se como indicador da qualidade do fruto e dos procedimentos de manipulação.

1.6.2.2. Espectrofotometria no ultravioleta

As absorvâncias nos comprimentos de onda de 232 nm e 270 nm são devidas à presença de dienos e trienos conjugados. O azeite absorve 3 a 4 vezes menos na região entre 208 e 210 nm do que outros óleos vegetais (Kiritsakis *et al.*, 1987; Li-Chan, 1994). Assim, a absorção da radiação ultravioleta, é frequentemente usada para verificação da adulteração do azeite. A análise por espectrofotometria no ultravioleta para além de fornecer indicações sobre a natureza de uma matéria gorda, permite também verificar o estado de conservação e as modificações devidas ao processamento tecnológico.

1.6.2.3. Índice de peróxido

Um valor elevado no índice de peróxido é indicador de que as azeitonas ou a pasta das azeitonas foram trabalhadas desadequadamente, tendo o azeite defeito e por outro lado podem ter sido mal armazenado (IMIDRA, 2007). A determinação do índice de peróxido (IP) visa determinar a oxidação do azeite e a sua monitorização pode permitir determinar a deterioração de alguns antioxidantes naturais como os tocoferóis e polifenóis. O limite do índice de peróxido, para que o azeite seja considerado próprio para o consumo humano, é de 20 mEq. de O₂ activo/kg.

1.6.2.4. Rancidez ou Estabilidade Oxidativa

A estabilidade oxidativa constitui um indicador, para avaliação da qualidade de óleos e gorduras, que não depende apenas da sua composição química e da qualidade da matéria-prima, mas reflecte as condições a que o mesmo foi submetido, durante o processamento e armazenamento, até ao momento em que se realiza a análise através da determinação do período de indução (Rosales, 1989; Hill, 1994).

Para verificar a estabilidade ou a sensibilidade à oxidação, a amostra é submetida a uma oxidação acelerada, sob condições padronizadas, pela elevação de temperatura, aumento da quantidade de oxigénio e agitação (Antoniassi, 2001). Para

definir o índice de estabilidade, (Frankel, 1993; Hill, 1994; Rosales, 1989; Laubli *et al.*, 1986), é frequente recorrer-se ao aparelho Rancimat que torna possível a simulação destas condições e permite a determinação da resistência à oxidação de forma mais expedita.

A susceptibilidade à oxidação varia em função do grau de insaturação do azeite, o qual está associado à composição dos ácidos presentes nos triglicéridos. Quanto mais insaturado for o azeite, maior será sua susceptibilidade à oxidação.

A estabilidade oxidativa é um dos requisitos de qualidade mais importantes no azeite, principalmente naqueles utilizados na formulação de outros produtos, pois tem influência nas condições do processamento, nos atributos sensoriais e na vida útil deste outro produto (Singhal *et al.*, 1997).

1.6.2.5. Esteróis e álcoois triterpénicos

Os esteróis são uma parte significativa da composição não saponificável do azeite. O azeite virgem contém vários esteróis com uma composição bastante característica, a qual tem sido utilizada para detectar adulteração com outros óleos. Os principais esteróis dos azeites virgens são: β -sitosterol, o Δ^5 -avenasterol, o campesterol, o estigmasterol e o Δ^7 -estigmasterol. Os fitoesteróis têm papel importante do ponto de vista da saúde, pois baixam o nível de colesterol do plasma sanguíneo e evitam, deste modo, os seus malefícios a nível da arteriosclerose e da doença coronária (Christakis, 1996).

Os azeites refinados e óleo de bagaço da azeitona têm um valor de esteróis totais diferente do que se verifica nos azeites virgens, cujo mínimo é de 1000 mg/kg de azeite (Regulamento (CE) N.º 1989/2003; Becker *et al.*, 2005).

Relativamente aos álcoois triterpénicos, derivados das reacções de biossíntese dos ácidos gordos, preponderam os de estrutura pentacíclica dos quais assumem importância prática especial dois dióis constituintes típicos do epicarpo da azeitona, o eritrodiol e o uvaol (Gouveia, 1995). O solvente usado para a extracção do óleo de bagaço (hexano) dissolve também estes compostos, que são mais abundantes nas peles e nas sementes do que na polpa. Valores elevados de eritrodiol e de uvaol podem ser uma indicação da adição do óleo de bagaço de azeitona ao azeite virgem.

Um índice maior de eritrodiol e do uvaol em azeites virgens pode querer dizer que houve uma segunda pressão das pastas ou uma pressão demasiado elevada (Gouveia, 1995).

1.6.2.6. Ácidos gordos totais

A identificação de ácidos gordos no azeite permite verificar a existência de ácidos gordos não característicos, por exemplo: o ácido mirístico (C14:0; óleo de coco), ácido linoleico (C18:3; óleo de linhaça), ácido araquídico (C20:0; óleo de amendoim), ácido gadoleico (C20:1; óleo do colza), ácido beénico (C22:0; óleo de amendoim), ácido lignocénico (C24:0; óleo de amendoim).

O Regulamento (CE) N.º 1989/2003 introduz limites para os isómeros *trans* do ácido oleico, do ácido linoleico e do ácido linolénico (denominados de forma mais generalista por isómeros *trans*). Processos industriais ilícitos pretendem mascarar a utilização de óleos de outras proveniências, adicionados ao azeite, causando algumas modificações na estrutura dos ácidos gordos, nomeadamente na percentagem de isómeros *trans*. Valores elevados destes isómeros são bons indicadores de adulterações ou fraudes dos azeites virgens com óleos refinados.

1.6.2.7. Ceras

O Regulamento (CE) n.º 183/93, datado de 29 de Janeiro de 1993, L 22, com a actualização no Regulamento (CE) N.º 1989/2003 considera a determinação das ceras e impõe limites para a sua concentração. As ceras são compostas naturalmente presentes nas azeitonas (ésteres de ácidos gordos com álcoois de cadeia mais longa do que o glicerol). Em particular são mais abundantes no epicarpo. Durante a extracção, algumas delas são transferidas para o azeite.

O solvente utilizado no processo de extracção do óleo de bagaço de azeitona, também extrai uma quantidade significativa de ceras que, após a remoção do solvente, ficam solubilizadas no referido óleo. A determinação das ceras pode servir para verificar a adição de óleo de bagaço de azeitona ao azeite.

1.6.2.8. Polifenóis

Compostos fenólicos são metabolitos secundários das plantas, com grande diversidade estrutural e ampla distribuição filogenética (Harborne, 1989).

As classes mais importantes de compostos fenólicos nas azeitonas incluem ácidos fenólicos, álcoois fenólicos, falvenóides e secoiridoides (Macheix *et al.*, 1990; Ryan *et al.*, 1998; Soler-Rivas, *et al.*, 2000).

Compostos fenólicos, em geral, e secoiridoides em particular, influenciam as propriedades sensoriais das azeitonas e dos azeites (Brenes *et al.*, 1995). Nos azeites são os principais agentes na resistência contra a auto-oxidação e a foto-oxidação (Botía *et al.*, 2001; Papadopoulos *et al.*, 1999; Romani *et al.*, 1999).

Diferenças significativas de compostos fenólicos, são igualmente descritas consoante o estado de maturação dos frutos quer quantitativamente quer qualitativamente (Amiot *et al.*, 1989; Esti *et al.*, 1998; Romani *et al.*, 1999, Vinha *et al.*, 2005).

Os polifenóis presente no azeite que se destacam são: tirosol, hidroxitirosol, oleuropéina, ácido caféico e ácido *p*-coumárico (Jiménez *et al.*, 2007).

1.6.2.9. Ácidos gordos em posição dois

A relação entre ácidos gordos saturados e insaturados pode contribuir para a caracterização da cultivar, uma vez que o perfil de ácidos gordos é principalmente afectado pelo fruto (Ranalli *et al.*, 1996; Gouveia, 1997; Stefanoudaki *et al.*, 1999; Sanchez *et al.*, 1997; Cortesi *et al.*, 2000). Outros factores tais como, clima, irrigação e estado de maturação, podem igualmente afectar o teor de ácidos gordos e de triacilgliceróis (Ranalli *et al.*, 1997; Aparicio *et al.*, 2002).

A sua análise permite ter uma indicação da existência de óleo esterificado no azeite. Os ácidos gordos saturados presentes nas moléculas dos triglicéridos dos azeites estão ligadas, ao glicerol preferencialmente nas posições 1 e 3, sendo a posição 2 é ocupada principalmente por ácidos gordos insaturados. Esta distribuição depende desta particularidade na biossíntese dos triglicéridos durante a formação do azeite no fruto. O processo de síntese industrial de um triacilgliceról (esterificação),

não discrimina entre ácidos gordos saturados ou insaturados, isto significa que a quantidade de ácidos gordos saturados na posição 2 vai ser maior que a presente em óleos naturais (Boskou, 1996; Gunstone, 1996 Aranda *et al.*, 2004).

1.6.2.10. Tocoferóis

Os tocoferóis são, tal como os fitoesteróis, componentes importantes da fracção insaponificável de óleos e gorduras vegetais. Os seus benefícios, múltiplos na nutrição, são amplamente descritos (Traber *et al.*, 1995).

Os tocoferóis têm propriedades da vitamina E e possuindo actividade antioxidante, protegendo os tecidos do corpo dos efeitos prejudiciais causados pelos radicais livres que resultam do metabolismo normal. Entre todos os tocoferóis, o α -tocoferol é o que apresenta a actividade biológica mais elevada.

Mesmo que o α -tocoferol seja o tocoferol mais interessante e o mais abundante, a quantificação de outros homólogos é igualmente importante. Por exemplo, pensa-se que o γ -tocoferol exerce uma protecção mais elevada de encontro aos radicais perniciosos, tais como o peroxinitrite (por causa de suas propriedades de oxidação, pode danificar um vasto leque das moléculas nas células, incluindo o ADN e proteínas), do que o α -tocoferol (Hoglen *et al.*, 1997).

1.6.2.11. Álcoois Alifáticos

Os principais álcoois alifáticos presentes no azeite são: docosanol, tetracosanol, hexacosanol e octacosanol. Os álcoois alifáticos são encontrados em quantidades significativamente maiores no óleo de bagaço de azeitona do que no azeite. Mariani *et al.* (1991) relatou que o índice elevado de álcoois alifáticos totais em alguns azeites se deve principalmente à presença dos álcoois alifáticos na forma (não esterificada) livre. Este fenómeno é atribuído a condições climáticas adversas (seca prolongada).

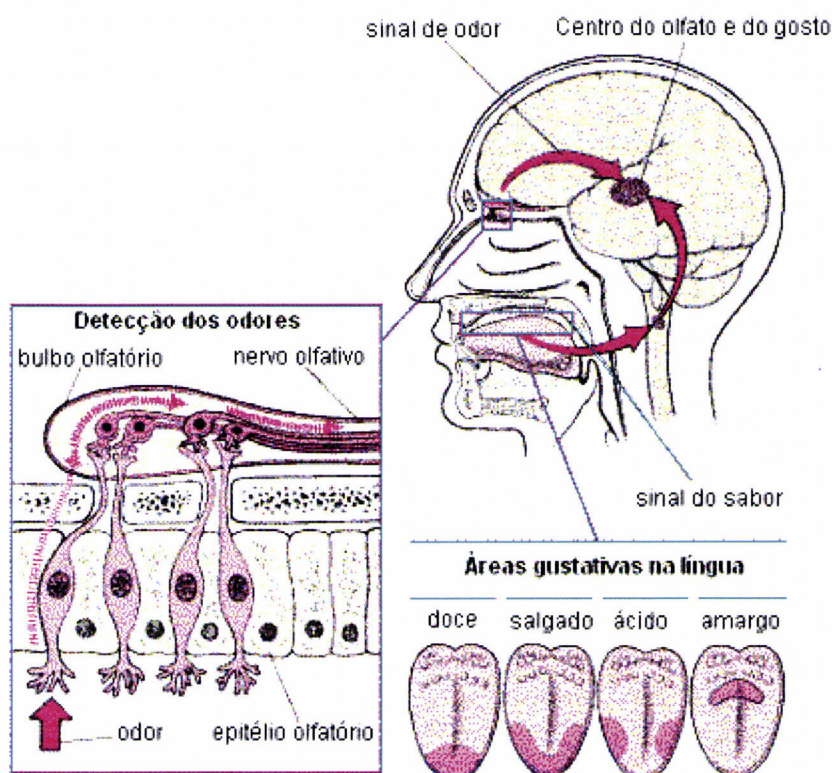
Para os azeites virgens e virgens extra o teor de álcoois alifáticos não pode exceder os 250 mg/kg (COI/T.20/Doc. No. 26 – Junho 2003).

1.6.2.12. Análise sensorial

A ingestão de alimentos está, inseparavelmente, ligada à estimulação dos sentidos, essencialmente o olfacto e o paladar (Regulamento (CE) N.º 1989/2003) (ver figura 1.5). Os sentidos, olfacto e paladar, são denominados de sentidos químicos, porque os seus receptores são excitados por estímulos químicos. Estes sentidos trabalham conjuntamente na percepção dos sabores.

A sensação de odor é despoletada por uma mistura altamente complexa de moléculas, geralmente hidrofóbicas, de natureza química diversa, que apesar de presentes nos alimentos em concentrações extremamente baixas são detectadas pelas células receptoras do epitélio olfativo no interior da cavidade nasal. (Meilgaard *et al.*, 1989; Merck, 2007). A fixação ou persistência do odor está relacionada com a volatilidade do composto.

O paladar é reconhecido ao nível da língua. Na língua, estão presentes as papilas gustativas que reconhecem substâncias/compostos dos alimentos e enviam a informação ao cérebro (Meilgaard *et al.*, 1989; Merck, 2007).

**Figura 1.5**

Esquema dos mecanismos olfativos e gustativos (Fonte: Adaptado de Manual Merck de Saúde para a Família, 2007).

O centro do olfacto e do paladar no cérebro combina a informação sensorial da língua e do nariz (Merck, 2007).

A análise sensorial pode ser “grosseiramente descrita” como uma técnica capaz de determinar as características organolépticas dos alimentos utilizando como instrumento de medida os sentidos humanos, sendo um dos parâmetros mais importantes da determinação da qualidade do azeite.

As provas são realizadas por painéis de provadores seleccionados e treinados. As características avaliadas são sensações, detectáveis pelos sentidos, fundamentalmente relacionadas com o cheiro e o sabor. Durante a análise detectam-se e pontuam-se os atributos positivos e negativos (caso haja) procurando definir as características do produto, segundo uma ficha de prova (ver anexo IV) determinada (a folha de prova utilizada para a avaliação sensorial dos azeites obtidos foi a mencionada no Regulamento (CEE) N.º 2568/91, uma vez ser este o regulamento que estava em vigor no início dos trabalhos e, devido à diferença para o actual, Regulamento (CE) n.º 1989/2003 ser significativa, optou-se pela manutenção dos critérios mencionados no primeiro).

Durante a prova, a primeira impressão avaliada é a olfactiva, segue-se a degustação onde se pretende avaliar o sabor e as impressões tácteis. Todos os procedimentos para a prova do azeite estão descritos no Anexo XII do Regulamento (CEE) N.º 2568/91.

1.6.2.13. Compostos voláteis do azeite

Para definir a complexidade de sensações proporcionadas pelos compostos voláteis, utiliza-se a palavra francesa “*flaveur*”, sendo por vezes utilizada de maneira confusa, como designação de odor, sabor, cor e textura de um alimento, assim como para uma mistura das sensações de sabor e odor causados por uma substância na boca. Esta última definição é mais correcta, principalmente no caso do azeite. Em português, a palavra aroma é a correspondente ao termo *flavour* (palavra inglesa referente a *flaveur*) internacionalmente utilizada, para designar substâncias que dão sabor e odor aos alimentos.

No azeite foram já identificados, mais de uma centena e meia de compostos do aroma, de natureza química muito variada entre os quais se encontram hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, ésteres, fenóis, derivados do fenol, terpenos oxigenados e derivados do furano (Segovia De Arana, 1975; Vichi *et al.*, 2003, Angerosa *et al.*, 2004; Kalua *et al.*, 2007; Haddada *et al.*, 2007).

Os compostos voláteis do azeite são, na sua maioria, resultado da oxidação dos ácidos gordos. É do conhecimento geral que enzimas endógenas, através da via da lipogenase, são responsáveis pela origem dos aromas que dão a noção de qualidade ao azeite. Por outro lado, associados à actividade microbiana estão os compostos geralmente relacionado com os defeitos. Quer o tipo de processamento, quer o tipo de armazenamento dos frutos, estão directamente conotados com o aroma (*flavour*) e a qualidade do azeite (Angerosa, 2002; Venkateshwarlu *et al.*, 2004).

A selecção de uma matéria-prima de qualidade, com um estado de maturação ideal, associado ao método de extracção mais conveniente, são factores fundamentais para controlar o processo de formação de compostos do aroma. A ausência de defeitos, do ponto de vista sensorial, é fundamental para que o azeite seja classificado como “virgem extra”. Tanto os atributos sensoriais positivos como negativos podem estar associados a compostos voláteis (Angerosa *et al.*, 2000).

De uma forma geral, os compostos voláteis são compostos com um peso molecular baixo (menos de 300 Da, em que $1 \text{ Da} = 1,660\,538\,782(83) \times 10^{-27} \text{ kg}$) que volatilizam à temperatura ambiente (entre os 21 e os 23 °C). A maior parte dos compostos voláteis identificados no azeite são C_6 e C_5 (com 6 e 5 carbonos na sua estrutura). O hexanal, trans-2-hexenal, hexan-1-ol e 3-metilbutan-1-ol são os compostos voláteis mais comuns em todos os azeites virgens na Europa (Aparicio *et al.*, 1997; Kiritsakis, 1998; Angerosa, 2002).

Estudos realizados em azeites virgens extra, italianos, espanhóis e marroquinos (Reiners *et al.*, 1998) confirmaram a riqueza em compostos voláteis C_6 mas por outro lado revelaram pobreza em ésteres com características de frutado - etil isobutirato, etil butirato, etil 2-metilbutirato, etil 3-metilbutirato e etil ciclohexilcarboxilato se bem que os azeites marroquinos apresentam maior concentração destes últimos. A concentração não está, porém, directamente relacionada com o impacto sensorial. Compostos presentes em maior quantidade nem sempre são os que vão dar um maior contributo para o odor do azeite. Uma concentração de cerca de 6670 µg/g para o trans-2-hexenal apresenta uma actividade

odorífica de 16 (valor da actividade odorífica - VAO, é obtido pela divisão da concentração relativa de cada composto pelo seu valor limite de detecção odorífica, LDO, Czerny *et al.*, 2000), enquanto que o 1-penten-3-ona com uma concentração muito mais baixa, cerca de 26 µg/g, apresenta um VAO de 36 (Reiners *et al.*, 1998). A actividade odorífica foi calculada dividindo a concentração do composto no azeite pelo seu limiar de detecção. O limiar de detecção é definido como a concentração mínima em que o composto se torna detectável pelo olfacto.

A fracção volátil tem toda ela impacto na qualidade de um azeite. Compostos voláteis que existam no azeite, abaixo do limiar de detecção e que não contribuem directamente para o aroma, podem ser importantes para o metabolismo de formação e/ou degradação de outros compostos voláteis que contribuem de forma significativa para o aroma. Tornam-se pois marcadores importantes (Buttery *et al.*, 2004).

A fracção volátil inclui compostos carbonílicos em C₅, entre eles, pentenóis, hidrocarbonetos e outros compostos, menos significativos, não derivados da transformação de ácidos gordos (Angerosa *et al.*, 1998; Buttery *et al.*, 2004).

A cultivar, a geografia, a maturação do fruto e o método de processamento são parâmetros que influenciam a composição volátil do azeite. Frutos de diferentes cultivares, produzidos sob as mesmas condições ambientais podem produzir azeites com diferentes características na composição volátil; a mesma cultivar, produzida em diferentes regiões, pode, igualmente, produzir azeites diferentes em termos sensoriais e químicos (Angerosa *et al.*, 1999; Benincasa *et al.*, 2003; Prenzler *et al.*, 2002). Os compostos do aroma no azeite tendem a aumentar, até uma determinada concentração, com o aumento do índice de maturação (Aparicio *et al.*, 1998; Kiritsakis, 1998).

Para além do factor fundamental que é o fruto, todas as diferenças tecnológicas, desde a pós-colheita ao processamento, têm influência na formação da fracção volátil. Os métodos de extracção e as condições em que estes operam, em particular o tempo e temperatura de malaxagem (termobatedura), podem produzir, azeites com diferentes aromas (Angerosa *et al.*, 1998; Di Giovacchino *et al.*, 2002; Ranalli *et al.*, 2003).

Na realidade, o armazenamento após a colheita pode diminuir o conteúdo em aldeídos e ésteres, os quais são responsáveis por algumas notas positivas no aroma. Além disso, o armazenamento dos azeites é propício à produção de compostos relacionados com notas desagradáveis (Koprivnjak *et al.*, 2000). A ausência de aldeídos, álcoois e ésteres em C₆, provenientes da lipogenase, bem como a presença

de aldeídos originários da oxidação, incluindo hexanal, caracteriza os aromas defeituosos do azeite. Os aromas desagradáveis são potencialmente tóxicos e têm um limiar de detecção baixo (Ha *et al.*, 2004)

A formação dos compostos voláteis não se dá de forma significativa durante o crescimento do fruto, mas sim durante a fase “climatérica”. Durante este período, os frutos produzem etileno, induzindo alterações bioquímicas, físicas e químicas e aumentando a actividade enzimática. Nas azeitonas, a fase climatérica deve ocorrer no período em que o azeite é extraído da drupa originando assim um acréscimo significativo na qualidade do azeite, enriquecendo-o com compostos voláteis (Ranalli *et al.*, 1998). A maior parte destes compostos voláteis são formados por acção das enzimas que são libertadas quando os frutos são esmagados e durante a termobatedura (Olias *et al.*, 1993).

A produção de compostos voláteis, quer durante a fase climatérica quer durante a fase de processamento, envolve diversas vias (Buttery *et al.*, 2004) e são resultantes de processos de oxidação química e enzimática. Os voláteis formados através da oxidação química são responsáveis pela rancidez oxidativa. Em contraste, a oxidação enzimática dos azeites, especialmente pela lipoxigenase, é considerada a responsável pelo aroma característico do azeite (Angerosa, 2002). Os compostos voláteis podem, igualmente, ser produzidos a partir dos aminoácidos (Tressl *et al.*, 1973).

Contudo, o conhecimento dos processos que conduzem à produção de compostos voláteis, responsáveis por atributos, quer positivos quer negativos, pode e deve ser utilizada no desenvolvimento de tecnologia de produção e de armazenamento que conduzam à potenciação das qualidades do azeite.

1.6.2.13.1. Fenómenos de oxidação

Muitos dos compostos voláteis do azeite são formados por oxidação dos ácidos gordos livres, podendo-se distinguir diferentes tipos de oxidações: auto-oxidação, lipólise ou oxidação enzimática e a foto-oxidação (Gouveia 1995; Cavalli *et al.*, 2004).

A presença de oxigénio no azeite, mesmo em quantidades vestigiais, desencadeia múltiplas reacções em cadeia. A facilidade da oxidação do azeite está ligada à presença de ácidos gordos livres que o tornam sensível ao oxigénio, facilitando o processo de auto-oxidação, com a consequente formação de um hidroperóxido.

Na foto-oxidação, a radiação ultravioleta activa uma molécula de um pigmento (ex: clorofila) iniciando-se o processo de oxidação usando o oxigénio livre presente. O processo de foto-oxidação começa depois do azeite ter sido extraído do fruto e continua durante o armazenamento (Gouveia, 1995). É obviamente acentuado na presença de luz.

A oxidação enzimática, também designada por lipólise, começa normalmente quando o azeite ainda se encontra no fruto. Entre as diversas reacções de oxidação de ácidos gordos, catalisadas por enzimas específicas, a mais conhecida é designada por via da lipoxigenase (Ridolfi *et al.*, 2002; Angerosa *et al.*, 2004; Cavalli *et al.*, 2004). As enzimas responsáveis por esta via são as lipoxigenases. Estas enzimas catalisam reacções de oxigenação de ácidos gordos polinsaturados como os ácidos linoleico e linolénico.

Quando o tecido celular da azeitona é destruído, durante o processo tecnológico que permite a extracção do azeite ou devido a um grau de maturação excessivo, as lipoxigenases tornam-se activas e o processo inicia-se, figura 1.6.



Figura 1.6

Diagrama do mecanismo da oxidação enzimática do ácido linoleico e linolénico - Via da lipoxigenase. (Adaptado de Cavalli *et al.*, 2004).

Este mecanismo de oxidação, a lipoxigenase, leva à produção tanto de hexanal e *cis*-3-hexenal (compostos que apresentam uma descrição olfactiva; verde, erva e vagem) a partir do 13-hidroxiperoxido, como também de *cis*-3-nonenal e *cis,cis*-3,6-nonadienal (com percepções olfactivas pepino e pêra) a partir do 9-hidroxiperoxido. Posteriormente, estes aldeídos em C₆ e C₉, responsáveis pelas notas olfactivas “verde” e “erva” de muitos frutos e vegetais, transformam-se, por acção enzimática, em álcoois e ésteres em C₆ e C₉, respectivamente (Ridolfi *et al.*, 2002; Angerosa *et al.*, 2004; Cavalli *et al.*, 2004).

Do ponto de vista biológico, a via da lipoxigenase ocorre promovendo a formação de compostos voláteis devido a mecanismos de defesa que as plantas desenvolvem, continuamente, perante agressões que atentam contra a sua sobrevivência, tais como a danificação mecânica, condições extremas de temperatura, potenciais agentes patogénicos, entre outros (Ridolfi *et al.*, 2002; Angerosa *et al.*, 2004; Cavalli *et al.*, 2004).

Azeites de alta qualidade têm um perfil volátil, maioritariamente constituído por aldeídos, ésteres, álcoois e cetonas, com origem na via da lipoxigenase, e que permitem uma caracterização com atributos positivos como verde e frutado.

1.6.2.13.2. Principais defeitos no azeite e sua biogénese

O perfil sensorial inicial de um azeite pode ser alterado passando a apresentar notas sensoriais desagradáveis/defeitos sensoriais. Os quatro defeitos frequentemente referidos em azeites são tulha, mofo, avinhado/avinagrado e ranço. Cada um destes atributos apresenta um perfil volátil, mais ou menos definido (Morales *et al.*, 2005).

Os defeitos tulha, mofo e avinhado/avinagrado são usualmente relacionados com a inadequada conservação das azeitonas antes da extração, enquanto o ranço aparece, geralmente, por oxidação ou armazenamento defeituoso dos azeites (Morales *et al.*, 2005).

Estes defeitos podem determinar a aceitabilidade ou não dos azeites, que podem ser relegados para a categoria de lampante e serem considerados impróprios para consumo.

1.6.2.13.3. Análise electrónica dos aromas por “Nariz Electrónico”

A detecção de compostos do aroma em azeites, revela-se de fundamental importância no controlo da qualidade desses produtos. A necessidade cada vez maior da caracterização dessa mesma qualidade de forma célere faz com que um resultado simples de agradável/desagradável, apto/não apto, se sobreponha a resultados complexos de química analítica baseada na separação de compostos (Guadarrama *et al.*, 2001; Guadarrama *et al.*, 2004).

Torna-se cada vez mais necessário produzir respostas imediatas quanto à apreciação sensorio/olfactiva, que levem a uma considerável poupança de tempo dispensando o “peso” económico e material de um painel de provadores.

No final dos anos 80 assumiu-se que uma matriz de sensores químicos não selectivos, combinada com um método de processamento de dados, poderia imitar as funções do olfacto. Surge assim o denominado “Nariz Electrónico”, responsável pela detecção electrónica de compostos voláteis.

Um conjunto de sensores, revestidos com materiais poliméricos/químicos ou outros, regista a passagem de um vapor, por alteração da resistência. Este registo desencadeia um processo de análise do aroma que permite, no final, classificá-lo segundo padrões previamente estabelecidos. Tal como acontece com o nariz humano, o sensor capta a informação dos produtos químicos, em termos de percentagem da sua pressão de vapor e não da sua concentração, e gera algoritmos matemáticos, processados por computador, que simulam a nossa discriminação olfactiva. O tratamento da informação global leva à obtenção de um padrão único distintivo do aroma, semelhante a uma impressão digital (Brezmes *et al.*, 2002).

Este instrumento tem como objectivo a obtenção de informação, principalmente qualitativa, do conjunto, imitando desta forma o sistema olfactivo humano.

Na indústria dos azeites vários são os trabalhos já realizados com sucesso, recorrendo à detecção electrónica de aromas. Guadarrama *et al.*, (2001) utilizaram este tipo de instrumento para caracterizar não só amostras de diferentes qualidades (segundo, Regulamento (CE) N.º 1989/2003) como também azeites obtidos por diferentes cultivares e de diferentes regiões, em que foi possível a discriminação das diferentes amostras, mesmo daquelas em que a única diferença seria a localização geográfica dentro de uma pequena área.

Um dos sistemas disponíveis é comercializado pela Alpha Moss e divide-se em 3 módulos (ver figura 1.7): módulo de amostragem que comporta o condicionamento da amostra e a extracção dos compostos voláteis com posterior injeção no sistema de sensores (ver anexo V, lista de sensores disponíveis quadro 6.9); módulo de detecção composto pelo conjunto de sensores semicondutores (geralmente poliméricos ou de óxidos metálicos- anexo V, figuras 6.3 e 6.4); módulo de tratamento de dados encarregue de gerir o processo de medição, processamento, visualização e posterior análise dos dados e resultados obtidos (Brezmes *et al.*, 2002).

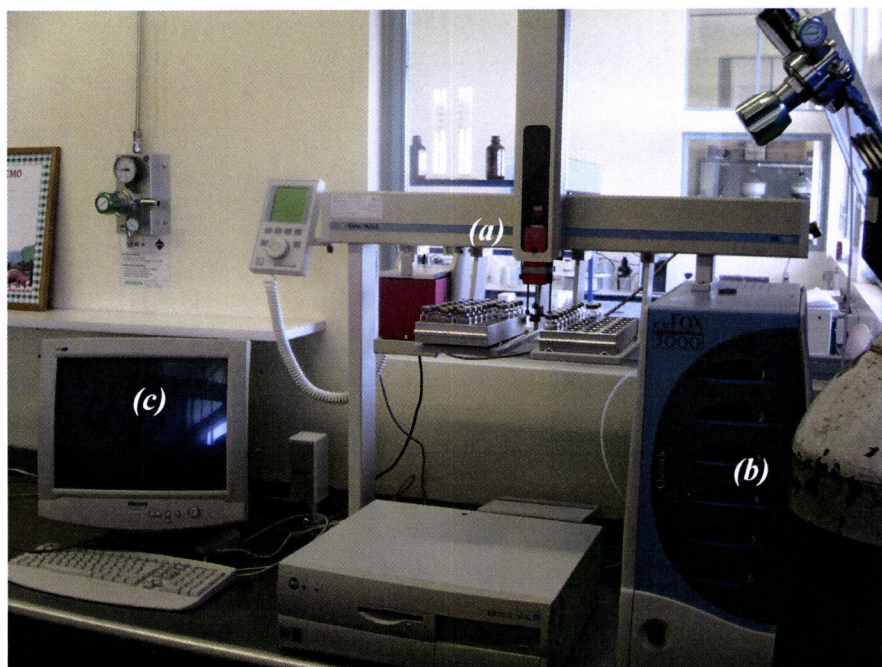


Figura 1.7

Aparelho Fox da Alpha-Mos utilizado, conhecido por “Nariz Electrónico”.
(a) - módulo de amostragem; (b) - sistema de sensores, (c) - sistema informático.

A detecção electrónica de aromas processa-se em duas etapas: calibração, o operador insere no sistema uma série de amostras conhecidas e identificadas, estas são classificadas (com base na reacção aos sensores, anexo V, lista de sensores disponíveis quadro 6.9), gera-se assim uma base de dados; análise, o operador limita-se a introduzir a amostra e o aparelho classifica, atendendo às bases de dados que durante a calibração armazenou. Durante a fase de calibração o sistema passa a reconhecer/associar aquele “comportamento” dos sensores com determinadas características da amostra, sendo essas características fornecidas pelo operador que as define. Na fase de avaliação, análise, o sistema compara a informação que está a

receber no momento com a que tem armazenada e identifica e classifica a amostra em conformidade.

Utiliza-se gás (especificações: $\text{H}_2\text{O} < 5\text{ ppm}$; $\text{C}_n\text{H}_m < 5\text{ ppm}$; $\text{O}_2 + \text{N}_2 > 99,5\%$ e $\text{O}_2 = 20\%$ (com variação máxima de 1 %) artificial para permitir o “transporte” da fase de vapor ao longo dos sensores. A intensidade do sinal depende da composição do gás de “arraste”, da temperatura e da humidade relativa (González-Martin *et al.*, 2000).

1.6.2.13.4. Análise dos compostos do aroma por *SPME-GC-MS* (*Solid Phase Microextraction - Gas chromatography - Mass Spectrometry*)

1.6.2.13.4.1. Princípios da Microextracção em Fase Sólida (*SPME*)

O método de *SPME* (*Solid Phase Microextraction* - Microextracção em Fase Sólida) é uma técnica relativamente recente, introduzida por Pawliszyn e co-autores em 1989. O método consiste na aplicação de uma fibra de sílica revestida por uma componente polimérica para a extracção de compostos orgânicos directamente da matriz líquida ou do espaço superior do recipiente fechado que contém a matriz por absorção e/ou adsorção. Segue-se a transferência directa dos analítos para o injector de um cromatógrafo de gás (*GC*), onde sofrem desadsorção ou desabsorção térmica. Na altura em que foi introduzido este método representou um importante avanço na extracção eficiente de poluentes orgânicos de amostras de água em concentrações muito baixas (na ordem dos $\mu\text{g L}^{-1}$) (De La Calle Garcia *et al.*, 1996; Vaz-Freire, 2003).

A comercialização das fibras e suportes tal como é exemplificado na figura 1.11, foi iniciada em 1993 pela Supelco (Bellefonte, USA). Comparando esta técnica com as técnicas mais tradicionais, especialmente em extracções sólido-líquido e líquido-líquido, o método apresenta enormes vantagens, entre elas: a alta sensibilidade e reprodutibilidade; baixo custo; ausência de solventes de extracção; não existência da necessidade de preparação prévia da amostra; possibilidade de automatização (De La Calle Garcia *et al.*, 1996; Vaz-Freire, 2003).

Com o objectivo de explicar a fundamentação de *SPME*, considera-se o sistema termodinâmico composto por três fases: o volume da fibra, a fase de vapor

(*head-space*) e a solução a analisar (Pawliszyn *et al.*, 1989). Durante a extracção há migração dos solutos, fase líquida, que passam ao estado de vapor ficando em equilíbrio com o líquido e, posteriormente, da fase de vapor para a fibra ficando em equilíbrio com esta (no caso de a matriz ser líquida).

A quantidade dos diferentes compostos absorvidos ou adsorvidos pela microfase polimérica da fibra, em equilíbrio com a solução a analisar, é proporcional à concentração desses compostos na solução aquosa e é determinada pela respectiva constante de partição de acordo com a equação 1.1:

$$n = (K \cdot V_f \cdot C_o \cdot V_s) / (K \cdot V_f + V_s)$$

Equação 1.1

Sendo

$n \Rightarrow$ Número de moles da substância absorvida/adsorvida na fase estacionária

$K \Rightarrow$ Coeficiente de partição da substância entre a fase estacionária e a fase aquosa

$V_f \Rightarrow$ Volume da fase estacionária

$V_s \Rightarrow$ Volume da amostra

$C_o \Rightarrow$ Concentração inicial da substância na fase aquosa

A quantidade de substância extraída pela fibra é dada pela equação 1.2

$$n = K \cdot V_f \cdot C_0$$

Equação 1.2

1.6.2.13.4.2. Tipos de fibras

As fibras de SPME, (Supelco Bellefonte, EUA), podem ser classificadas de acordo com a composição química do seu revestimento, que condiciona o mecanismo de extracção (quadro 1.4). A espessura do revestimento condiciona a capacidade de

carga, logo a “quantidade extraível”. Há diversas fibras disponíveis comercialmente (quadro 1.3); a composição determina igualmente a temperatura de utilização

Quadro 1.4

Tipos de fibras disponíveis e temperaturas de desadsorção ou desabsorção, para análise em CG (SUPELCO® Bellefonte, EUA) (Adaptado de Vaz-Freire, 2003).

Fibra	Temperatura de desadsorção ou desabsorção recomendadas em °C ^a	Tipo de extracção	Diâmetro	Polaridade
PDMS	200-270	Absorção	100 µm	Apolar
PDMS	200-270	Absorção	30 µm	Apolar
PDMS	220-320	Absorção	7 µm	Apolar
PDMS/DVB	200-270	Adsorção	65 µm	Bipolar
“StableFlex™” PDMS/DVB	200-270	Adsorção	65 µm	Bipolar
PA	220-310	Absorção	85 µm	Polar
“Carboxen™”/PDMS	240-300	Adsorção	75 µm	Bipolar
“CarboWax®”/DVB	200-260	Adsorção	65 µm	Polar
“StableFlex™”/ DVB/“Carboxen™”/PDMS	230-270	Adsorção	50/30 µm	Bipolar

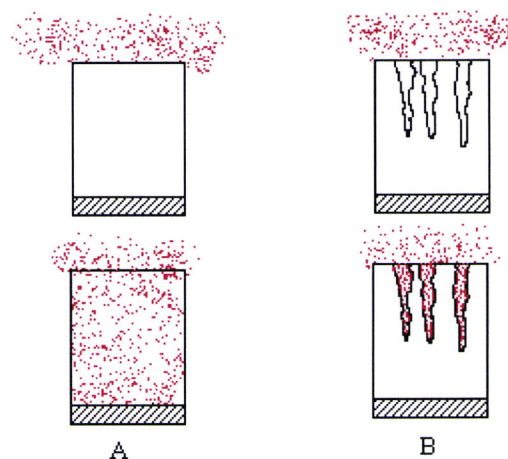
DVB - Divenilbenzeno

PDMS - Polidimetilsiloxano

PA – Poliacrilato

a – SUPELCO® Bellefonte, PA.

A capacidade de retenção da fibra, quando a extracção é executada por absorção (figura 1.8), depende da espessura do revestimento e do “tamanho” do analito. A polaridade da fibra pode atrair o analito, mas é a espessura da fibra que o retém (Shirey, 2000).

**Figura 1.8**

Representação esquemática da extração por absorção (A) *versus* extração por adsorção (B).
(Adaptado de Vaz-Freire, 2003)

Inúmeros trabalhos têm sido realizados de modo a definir as fibras mais adequadas para cada matriz específica (Vichi *et al.*, 2003; Kalua *et al.*, 2006). No caso do azeite, a fibra de divinilbenzeno-carboxen-polidimetilsiloxano (DVB-CAR-PDMS) é a que tem permitido melhores resultados.

1.6.2.13.4.3. Extracções de Fase de Vapor ou Fase Líquida (Fibra Imersa)

Na extração feita através da fase de vapor (*head-space*), a fibra é introduzida no frasco que contém a amostra de modo a que esta não fique em contacto directo com a fase líquida a analisar (figura 1.9 B). O equilíbrio é estabelecido entre a solução líquida ou sólida, a fibra e a fase de vapor.

A extração com fibra imersa só é possível quando a amostra a analisar é uma matriz líquida cuja composição não se prevê que possa danificar a fibra (figura 1.9 A). A utilização de agitação magnética a uma velocidade constante favorece a homogeneização da extração (Vaz-Freire *et al.*, 2001, Vaz-Freire, 2003).

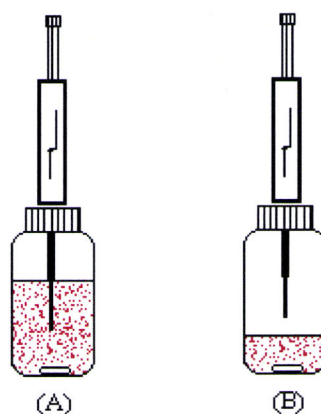


Figura 1.9

Exemplo de uma extracção com a fibra imersa (A) e em que a fibra é colocada na fase de vapor (B) (Adaptado: Vaz-Freire, 2003).

Qualquer dos métodos apresentados possui vantagens e desvantagens. Uma das vantagens da extracção a partir da fase de vapor reside no aumento da longevidade da fibra, por a mesma ser resguardada do contacto directo com a matriz e as quantidades de amostra necessárias serem geralmente mínimas. Tem, no entanto, como desvantagem, o aumento do tempo até se atingir o equilíbrio (Roberts *et al.* (2000). A extracção vai depender da maior ou menor afinidade dos compostos para com a fase líquida que condiciona a composição da fase de vapor (Vas *et al.*, 1998).

No modo fibra imersa, o equilíbrio estabelece-se, directamente, entre a matriz e a fibra e verifica-se, consequentemente, um aumento efectivo da sensibilidade da extracção (Kataoka *et al.*, (2000). Como desvantagem, há uma efectiva diminuição do tempo de vida da fibra.

1.6.2.13.4.4. Optimização da amostra em SPME

A optimização da extracção, utilizando SPME, está, directamente, relacionada com o tamanho da amostra (volume), a velocidade da agitação (no caso de amostras líquidas), o tempo de contacto e a temperatura (De La Calle Garcia *et al.*, 1996).

A temperatura de 40 °C, é frequentemente, utilizada para a análise de compostos voláteis provenientes do azeite (Vichi *et al.*, 2003; Luaces *et al.*, 2003; Tura *et al.*, 2004). Esta temperatura permite que os compostos possam ser libertos

para a fase gasosa. É também importante evitar temperaturas mais altas uma vez que a deterioração do azeite é acelerada gerando assim novos compostos voláteis (Jelen *et al.*, 2000) que prejudicam a cromatografia e “mascaram” a análise. A temperaturas mais altas a capacidade de retenção dos compostos por parte da fibra é reduzida (Diaz-Maroto *et al.*, 2004). Uma vez a retenção dos compostos voláteis na fibra é exotérmica, temperaturas altas não são favoráveis para uma máxima captação dos compostos voláteis por parte da fibra (Kanavouras *et al.*, 2005, Diaz-Maroto *et al.*, 2004).

A desadsorção ou desabsorção dos compostos da fibra no injector do CG, depende da temperatura do sistema de injeção e do tempo de exposição em combinação com o fluxo de gás usado (Kataoka *et al.*, 2000). Os melhores resultados foram obtidos quando a fibra foi inserida à maior profundidade possível. Por outras palavras, a desadsorção ou desabsorção dos compostos deve-se dar a meio da câmara do injector onde a temperatura é máxima (De La Calle Garcia *et al.*, 1996), sendo esta, geralmente, cerca de 250°C.

Entre vários autores que estudaram a influência do pH na extracção por SPME, Shirey (2000) verificou que os efeitos provocados pela variação de pH não eram “fibro-dependentes”, ou seja, as razões da variação da resposta para diferentes valores de pH, eram similares para todas as fibras testadas (ver ponto 1.6.2.13.4.2. – quadro 1.4), para um determinado analito. Contudo, para soluções de pH mais básicos, a extracção é maior.

1.6.2.13.4.5. A importância do Padrão Interno (PI)

A utilização do padrão interno (PI), como nos demonstra De La Calle Garcia *et al.*, (1998), pode obviar resultados erróneos resultantes da diminuição da área do sinal, fruto da degradação da fibra. Variações de pH e variações significativas da temperatura de extracção, para além de outros factores, que afectam a altura do sinal, podem igualmente ser minimizadas pela utilização de um PI. Assim, a utilização do PI vai melhorar a qualidade dos resultados obtidos, ao homogeneizar pequenas variações resultantes de pequenas alterações no método. Estas pequenas variações na resposta, devido a várias condicionantes no processo de *SPME*, vêm aumentar a

importância da selecção do padrão interno para uma análise em termos quantitativos (Whiton *et al.*, 2000).

No método do PI são necessárias duas condições: que o elemento de referência (PI) não esteja presente na amostra a analisar e que o comportamento dos dois seja idêntico. Isto significa que as interferências devem ser idênticas sob o ponto de vista quantitativo. Um PI eficiente tem, assim, de “imitar” de perto o comportamento dos vários compostos a que está associado (Vaz-Freire *et al.*, 2001).

1.6.2.13.4.6. Análise por Cromatografia em Fase Gasosa (CG)

Os sistemas de detecção utilizados foram: detector de ionização de chama (DIC – *Flame Ionization Detector* – *FID* em Inglês) e por EM (Espectrometria de Massa – *Mass Spectrometry* - *MS*) em modo TIC ou SCAN (*Total Ion Current or Full Scan Detection Mode*).

O *FID* faz parte da categoria dos detectores de cromatografia gasosa capazes de responder a quase todos os compostos orgânicos (Bocek *et al.*, 1971); apresenta como vantagens a sua alta sensibilidade, boa estabilidade e grande linearidade de resposta. O *FID* permite identificação qualitativa (tempo de retenção) e quantitativa (área dos picos) dos compostos analisados

Por outro lado a detecção por *MS* em modo *SCAN*, vai nos dar informação complementar, uma vez que vai combinar as vantagens da cromatografia (eficiência de separação e alta selectividade) com as vantagens da espectrometria de massa (obtenção de informação estrutural, massa molar e aumento adicional da selectividade).

A análise de cromatografia gasosa recorrendo a uma só coluna é a aproximação corrente para a análise de compostos voláteis e semi-voláteis em inúmeras aplicações. No entanto, esta abordagem não fornece, necessariamente, o melhor resultado analítico em termos da identificação precisa de um determinado componente de uma dada amostra nem sequer em termos de garantia de identificação e/ou de separação. Em muitas análises, há uma oportunidade considerável para a sobreposição de sinais cromatográficos, tendo como base estatística a separação aleatória dos picos (Giddings, 1995) e também com base nas separações observadas para amostras reais.

Com o objectivo de expandir o espaço analítico da separação, soluções baseadas em mais do que um cromatógrafo desenvolveram a cromatografia gasosa multidimensional (*Multi-termed Multidimensional Gas Chromatography* - MDGC), podendo agora uma amostra ser sujeita aos mecanismos múltiplos da separação. Apesar destas aproximações serem conhecidas há vários anos e mostradas, em estudos efectuados como fornecedoras de uma separação muito melhor para sobreposições para determinado pico do alvo, esta metodologia raramente é utilizada num ambiente rotineiro no mundo da cromatografia, presumivelmente por causa da complexidade de pôr em prática a MDGC (Marriot *et al.*, 2000).

As técnicas de separação multidimensional constituem uma classe poderosa de métodos em que duas ou mais etapas separativas são ligadas com o objectivo da separação.

A cromatografia gasosa compreensiva (GCxGC) expande o método de MDGC num formato de fácil utilização que não se resume numa zona específica da análise da primeira dimensão. Bushey e Jorgensen (1990) montaram uma estrutura contínua onde uma análise rápida na segunda coluna permite repetir a análise para todo o efluente que passa na primeira coluna. Desta maneira, o efluente da primeira coluna é sujeito, completamente, ao estudo dimensional pela segunda coluna.

De uma forma esquemática apresentamos os componentes principais que vão permitir a cromatografia GCxGC (figura 1.10).

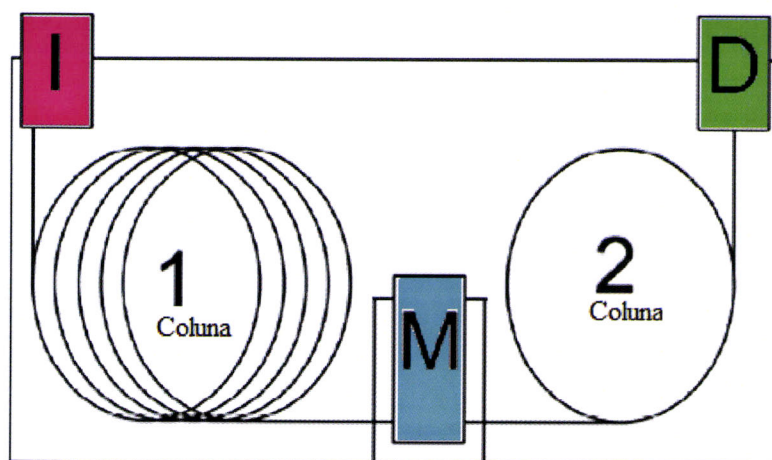


Figura 1.10

Esquema de um sistema GCxGC. I – Injetor; M – Modulador; D – Detector; 1 Coluna – Coluna capilar responsável pela primeira dimensão; 2 Coluna – Coluna capilar responsável pela segunda dimensão.

Este sistema consiste em acoplar as duas colunas, através de um sistema de modelação cuja função é reter pequenas secções de eluente da primeira coluna e de forma rápida, injectá-lo na segunda coluna. As duas colunas têm polaridades diferentes criando-se um sistema ortogonal de separação. Se, por exemplo, a primeira coluna é não apolar baseando assim a separação no ponto de ebulição, podemos assumir que compostos que co-eluem na primeira dimensão podem ter diferentes propriedades químicas, que podem ser usadas como base para a separação na segunda coluna, assegurando que a fase da coluna seja capaz de distinguir estas diferentes propriedades, por exemplo utilizar uma coluna polar. Assim, com este sistema, a segunda coluna vai contribuir para a separação de forma decisiva aumentando de forma significativa a resolução do número de picos

Marriott *et al.* (2001) dá-nos o seguinte exemplo, elucidador da capacidade desta técnica: se a primeira coluna, que é geralmente de dimensões convencionais, tiver uma resolução de 400 “picos” e se a segunda coluna, normalmente curta, tiver uma resolução relativamente baixa, com uma capacidade de cerca de 15, então o sistema deve ter uma capacidade de $400 \times 15 = 6000$ “picos” separáveis, se o espaço total da separação for utilizável. Uma única coluna não consegue chegar perto desta capacidade; sendo considerada de desempenho limitado da separação. Uma única coluna com resolução semelhante teria de ter cerca de 100 km.

Resumindo, este tipo de cromatografia vai permitir a adição de mais uma dimensão na análise cromatográfica, resolvendo assim os problemas de coeluições que se verificam com muita frequência na análise de cromatografia gasosa recorrendo a uma só coluna, para amostras de alguma complexidade.

1.6.2.13.4.7. Utilização de *Finger Printing* (“impressão digital”) na análise dos compostos do aroma

A utilização de um conjunto de compostos que permita a identificação de uma determinada amostra é o propósito de inúmeros trabalhos. Entre as diversas técnicas para identificação de compostos, a técnica de GCxGC-MS é uma delas, mas a complexidade de algumas amostras torna complicada a utilização dos resultados obtidos para a identificação e diferenciação de diversas amostras dentro de um

determinado grupo. Assim, técnicas que simplifiquem a leitura da complexa informação fornecida por este tipo de análises são bem vindas.

A analogia utilizada de impressão digital visa a comparação do resultado final de uma análise que culmina com um cromatograma, neste tipo de técnica analítica, e faz com que essa imagem seja uma impressão que identifique determinada amostra.

Uma das vias principais para a análise de imagens é transformar a imagem típica colorida numa imagem binária (preto e branco), modulando as cores mais significativas dos sinais cromatográficos para serem os mais escuros ou os mais claros. Por outro lado, autores como Ohta *et al.*, (1980) verificaram que as cores características básicas $(R + G + B)/3$, $R - B$ e $(2G - R - B)/2$ são eficazes para a segmentação das cores das imagens. Andreasen *et al.* (1997) definiu o parâmetro $g = 256.(G/(R + G + B))$ para a separação de plantas e solo em imagens coloridas. Woebbecke *et al.* (1992) estabeleceu por seu turno um índice de normalização diferenciado (*normalised difference index NDI*) usando o canal verde e vermelho para reduzir problemas de luminosidade em que $NDI = (G - R)/(G + R)$.

Na nossa abordagem à utilização da *Finger printing* (“impressão digital”), utilizámos duas vertentes: uma, em que transformámos a imagem típica colorida numa imagem binária (preto e branco) e uma segunda abordagem, em que utilizamos os níveis globais para cada uma das cores: azul, verde e vermelho. Como a imagem não provém de uma fotografia os problemas como a luminosidade são minorizados.

Cada fracção é monitorizada por GCxGC, dando um perfil mais complexo, mas mais preciso da composição da parte volátil de uma determinada fracção ou, por outras palavras, facilmente se pode reconhecer a “impressão” que representa determinada característica da amostra.

Torna-se possível identificar a zona/zonas que permitem a identificação dos azeites, e que ao mesmo tempo caracterizam as suas propriedades organolépticas desejáveis.

Este meio de identificação oferece a possibilidade de obter a caracterização essencial de determinada amostra aproximadamente em 1–2 h (por amostra), sugerindo-se que até operadores com menos experiência podem efectivar o controlo de qualidade através deste tecnologia (Cardeal *et al.*, 2007). É, assim, possível a “impressão” química (compostos voláteis) de azeites.

1.6.2.13.4.8. *Software* Image J

O ImageJ é um *software* de processamento de imagem, de domínio público, inspirado no programa NIH Image da Macintosh. Este programa tanto pode correr *online* como uma aplicação carregável, em qualquer computador com o Java 1.4. A aplicação é carregável para ambientes Windows, Mac OS, Mac OS X e Linux.

Este pode mostrar, editar, analisar, processar, guardar e imprimir, imagens no formato 8-bit, 16-bit e 32-bit. Pode ler imagens em diversos formatos incluindo: TIFF, GIF, JPEG, BMP, DICOM e FITS. Suporta “pilhas”, de séries de imagens que partilham numa única janela, limitado apenas pela memória disponível. É de “multi-leitura”, assim, operações demoradas tais como a leitura da imagem podem ser executadas paralelamente com outras operações.

Pode calcular áreas e valores de pixéis. Pode medir distâncias e ângulos. Pode criar histogramas. Suporta funções de processamento padrão da imagem tais como: a manipulação do contraste, rectificação da rugosidade, alisar, a detecção de limites e filtrar mediana.

Permite transformações geométricas tais como: variar tamanho, rotação e inversão da imagem.

A imagem pode ser aumentada até 32:1 e diminuída até 1:32. Todas as análises e funções de processamento estão disponíveis a qualquer uma das escalas referidas.

O autor deste *software*, Wayne Rasband (wayne@codon.nih.gov), trabalha na Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, Estados Unidos da América.

Estas capacidades mencionadas do Image J, faz com que seja utilizado em diversos campos da ciência desde a medicina, melhorando a informação base através da alteração das cores do aumento da definição e quantificação de determinadas áreas, facilitando o diagnóstico (Pool *et al.*, 2008; Sabel *et al.*, 2008; Kirilova *et al.*, 2008), à agricultura, para a quantificação de imagens com determinadas características com múltiplos fins (Surový *et al.*, 2004; Igathinathane *et al.*, 2008). Assim com as características que o *software* Image J apresenta, possibilita a sua utilização para a abordagem à utilização da *finger printing* (“impressão digital”).

CAPÍTULO II

PARTE EXPERIMENTAL

A parte experimental consistiu, numa primeira fase, na caracterização das azeitonas utilizadas para o estudo de comparação de dois métodos de extracção dos azeites. Numa segunda fase, procedeu-se à caracterização dos azeites, tendo por base as suas características físico-químicas; por último aprofundou-se o estudo dos compostos que constituem a fracção volátil dos azeites obtidos das diferentes variedades de azeitona (Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar) obtidos pelos dois sistemas de extracção em estudo, prensagem e contínuos, por centrifugação, de duas fases.

2.1. Material e Métodos

2.1.1. Cultivares utilizadas no estudo

As cultivares utilizadas no estudo foram a Galega Vulgar, Carrasquenha e Cobrançosa.

2.1.1.1. Origem das azeitonas

2.1.1.1.1. Localização e Caracterização dos Olivais

2.1.1.1.1.1. Galega Vulgar

A cultivar Galega Vulgar adveio de um olival com cerca de 70 anos propriedade do Sr. Eng. Manuel Guerra, situado na Herdade da Calada, em Elvas, distrito de Évora. Implantado com um compasso de 9 x 9 m, em quadrado, com uma densidade de, aproximadamente, 123 árvores /ha, num total de cerca de 50 ha.

O solo como um complexo de solos calcários vermelhos dos climas sub-húmidos e semiáridos normais de calcários com barros castanho-avermelhados calcários pouco descarbonatados, de rochas eruptivas básicas ou grés argilosos calcários, segundo a Carta de Solos de Portugal (Cardoso, 1965).

Os tratamentos fitossanitários para as principais pragas e doenças da oliveira são regularmente assegurados. O controlo de infestantes é efectuado utilizando o pastoreio, nomeadamente de gado ovino. A adubação foliar também é uma prática corrente. A colheita da azeitona é efectuada com um vibrador montado em tractor agrícola, sendo utilizados panejões para recolha.

2.1.1.1.1.2. Carrasquenha

A cultivar Carrasquenha foi instalada por enxertia em 1967, num olival plantado em 1964 da variedade Galega Vulgar. Está localizado na Herdade do Reguengo, propriedade do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Pescas (INIAP), em Elvas, concelho de Elvas, distrito de Évora, com cerca de 4 hectares, tendo um compasso de 8 x 5 m, em triângulo.

O solo é de características argilo-calcário com manchas de calcário inerte. Os tratamentos fitossanitários são executados no início da Primavera e do Outono. A manutenção do solo é feita com herbicida na projecção da copa e grade na entrelinha.

2.1.1.1.1.3. Cobrançosa

A cultivar Cobrançosa está instalada num olival plantado em 1991, na Herdade dos Lameirões, propriedade da Direcção Regional de Agricultura do Alto Alentejo (DRAAL), localizada em Safara, concelho de Moura, distrito de Beja.

Olival com cerca de 5 ha implantado em solos de natureza Bc, barro pardo calcário, não descarboxatado, de arenitos argilosos, argilas ou argilitos calcários, num compasso de 7 x 3,5 m com as cultivares Azeitona, Cobrançosa e Picual. O controlo da vegetação na linha, por baixo da copa das oliveiras, é feito com herbicidas. Na entrelinha foi praticada a mobilização tradicional do solo utilizando grade de discos enquanto que, na outra metade (destinada ao coberto vegetal), o controlo da vegetação foi feito nos primeiros anos, utilizando uma gadanhira de tambores montada nos três pontos frontais de um tractor agrícola; nos anos seguintes, foi utilizada uma destroçadora de martelos (no âmbito do Projecto AGRO 266, 2005). Foram

efectuados anualmente: tratamentos fitossanitários (desinfecção foliar) utilizando dimetoato, oxicleto de cobre, nitrato de potássio e micronutrientes em Março, Abril, Junho e Outubro; adubação com ureia 46% tendo sido aplicado 0,5 kg por árvore. Foi igualmente feita adubação azotada sob a forma líquida; podas de correcção das oliveiras, para que estas melhor se adaptem à colheita mecânica, tendo igualmente o objectivo de controlar o ataque de tuberculose que ainda se verifica; remoção dos subprodutos da poda para talhões adjacentes, de forma a não interferir nos tratamentos em estudo, e feito o seu destroçamento; retirada a rebentação basal das oliveiras.

As azeitonas Cobrançosa utilizadas para o ensaio são resultantes de uma mistura homogénea dos dois tipos de manejo mencionados.

2.1.1.2. Condições Meteorológicas

As condições meteorológicas foram registadas apenas para a região de Elvas (ver anexo I, tabela 6.1 e 6.2), não se tendo verificado alterações consideráveis entre os anos do ensaio, facilitando a homogeneidade de amostra entre os diversos anos de estudo.

Relativamente a Moura – não existem dados detalhados semelhantes aos apresentados para Elvas.

2.1.1.3. Colheita das amostras de azeitona.

As amostras foram colhidas ao longo de quatro campanhas: 2001/02, 2002/03, 2003/04 e 2004/05. A época da colheita das azeitonas foi determinada, empiricamente, pelos técnicos responsáveis pela gestão de cada um dos olivais utilizados.

A colheita dos frutos foi feita, mecanicamente, com vibrador O.M.I., multidireccional, de abertura frontal e acoplado frontalmente a tractor de 120CV, ou outro com características semelhantes. A excepção foi o último ano de colheita, no caso da variedade Carrasquenha, por questões logísticas, se procedeu a recolha não mecânica.

2.1.1.4. Transporte para o lagar

Efectuou-se sempre uma limpeza grosseira, manualmente, após a colheita. Os frutos foram transportados em caixas de plástico rígido perfurado (figura 2.1) com uma capacidade de $\pm 18\text{kg}$ (30 x 25 x 48 cm), permitindo bom arejamento.



Figura 2.1
Caixas utilizadas no transporte das azeitonas.

2.1.2. Processamento

As extracções e as operações prévias (limpeza e lavagem dos frutos) foram realizadas no lagar da Estação de Melhoramento de Plantas, em Elvas. As azeitonas foram processadas nas 24 h posteriores à colheita, com excepção das amostras do ano de 2001, em que estas foram congeladas.

2.1.2.1. Procedimentos antes da extracção

Efectuou-se uma limpeza, por corrente de ar, que permitiu a eliminação de folhas a que se seguiu uma lavagem com água corrente. Após estas operações, procedeu-se à colheita da primeira amostra (excepção foi o ano de 2001, ano zero, em que houve a necessidade de congelar as azeitonas).

A amostra foi retirada de uma forma homogénea, devidamente identificada, e seguiu para o laboratório. Nestas amostras determinou-se, o índice de maturação (Hermoso *et al.*, 1991), fez-se o controlo de pragas e doenças, nomeadamente a mosca (*Bactrocera oleae*) e gafa (*Gloeosporium olivarum*), e determinou-se ainda os teores de humidade e gordura (Ruiz *et al.*, 1991).

De seguida procedeu-se à extracção dos azeites, para cada uma das variedades, de lotes homogéneos, pelos dois sistemas tecnológicos em estudo com as devidas repetições.

2.1.2.2 Extracção

Foram processadas, em cada extracção, cerca de 18 kg de azeitona. A extracção foi realizada em triplicado.

As amostras de azeitona destinadas às análises laboratoriais, foram embaladas, em sacos próprios para produtos alimentares e, na impossibilidade de realizar de imediato as análises pretendidas, armazenadas a - 32 °C.

2.1.2.2.1. Moenda

Utilizou-se moinho de rolos cilíndricos, independentemente de se tratar da extracção por “duas fases” ou por “prensas”. A única diferença residiu na forma como a massa foi colocada na batedeira. No caso do método “prensas” a massa, depois de moída, é projectada para as paredes da batedeira enquanto que, no método das “duas fases”, a massa é projectada para o fundo da batedeira.

2.1.2.2.2. Batedura

Os sistemas utilizados, para os dois tipos de extracção, não permitiam o controlo automático da temperatura nem o registo automático. A temperatura foi

registada manualmente. No anexo III (figura 6.1) pode-se verificar que a temperatura de batadura nunca ultrapassou os 25 °C tal como aconselha Barranco *et al.* (2001).

Os tempos de operação foram controlados com recurso a cronómetro.



Figura 2.2

Sistema de moenda, batadura e encapachamento utilizado no processo descontínuo de prensas.

2.1.2.2.3. Extracção do azeite por prensas

Foi utilizado um encapachador, acoplado ao moinho e à batedeira (ver figura 2.2).

Os capachos utilizados, na construção do “castelo”, eram de nylon e estavam devidamente lavados, acondicionados em recipiente próprio, em congelador (-18 °C), garantindo-se níveis de contaminação mínimos.

A prensa utilizada (Vieirinox, Aveiro, Portugal, figura 2.3), trabalhou à pressão de 300 bar; o líquido obtido (mosto oleoso) foi separado, com recurso a decantadores de aço inoxidável.



Figura 2.3

Prensa utilizada no sistema de extracção descontínuo com o mesmo nome.

No decantador (figura 2.4), a temperatura da água foi controlada de modo a não ultrapassar os 25 °C. O tempo de espera para a separação das fases foi de 30 min.



Figura 2.4

Sistema de decantação utilizado na extracção descontínua de prensas.

2.1.2.2.4. Extracção do azeite por centrifugação de duas fases.

Para a extracção do azeite das massas de azeitona, depois de batida, utilizou-se um centrifugador horizontal contínuo (decanter), modelo Oliomio 50 (Oliomio, Itália), figura 2.5.

Sendo o funcionamento do centrifugador automático, garantiu-se uma rotação constante e tempos de extracção idênticos para todas as amostras. Para todas as extracções utilizaram-se orifícios de saída do azeite com as mesmas dimensões (o equipamento utilizado tem três alternativas, e opção numerada com o número dois, foi a alternativa escolhida).



Figura 2.5
Sistema Oliomio 50, utilizado na extração contínua por centrifugação, de duas fases.

2.1.2.2.5. Preparação das amostras de azeite

As amostras de azeite foram filtradas por filtro de xarope (Filtres Laurent-Prat-Dumas, França), secas sob sulfato de sódio anidro p.a. a 10 % (Vaz Pereira SA, Portugal), e filtradas, por filtro de papel do tipo 595 (Schleicher & Schuell MicroScience GmhH, Alemanha).

Todas as amostras foram armazenadas em frascos de vidro escuro à temperatura de - 32°C, até análise.

2.1.3. Análises efectuadas

2.1.3.1. Análise das Azeitonas

2.1.3.1.1. Determinação de gordura por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A amostra de azeitona foi homogeneizada, moída em moinho de martelos laboratorial, e seca em estufa, antes da leitura no aparelho de RMN (Oxford modelo 4000), de acordo com o método descrito por Ruiz *et al.* (1991), determinando-se igualmente as percentagens de humidade nas azeitonas e de gordura na matéria seca.

2.1.3.1.2. A cor da azeitona. Determinação do Índice de Maturação de Jaen

O índice de maturação dos frutos, foi determinado pelo método da *Estación de Olivicultura y Elaiotecnica*, Jaen, Espanha (Hermoso *et al.*, 1991), (equação 2.1) que recorre a uma amostra de 100 frutos, classificados e contabilizados pelos diferentes estádios de coloração.

$$IM=(A*0+B*1+C*2+D*3+E*4+F*5+G*6+H*7)/100 \quad \text{Equação 2.1}$$

Em que:

A -fruto totalmente verde

B -fruto verde-amarelado

C -fruto manchado de violeta

D -fruto violeta

E -fruto com película preta mas branco na polpa

F -fruto com película negra e menos de 50% de polpa roxa ou negra

G -fruto com película negra e cerca de 50% de polpa roxa ou negra

H -fruto com película negra e polpa totalmente roxa ou negra.

2.1.3.1.3. Controlo de pragas e doenças

À colheita foi avaliada a manifestação de gafa (*Gloeosporium olivarum* Alm.) e de ataques da mosca da azeitona (*Bactrocera oleae*).

O controlo foi efectuado numa amostra de 100 frutos seguindo o princípio do método de determinação do Índice de Maturação de Jaen descrito por Hermoso *et al.* (1991).

Contaram-se as azeitonas com gafa, azeitonas picadas e azeitonas picadas com galeria.

2.1.3.2 Azeites

2.1.3.2.1. Acidez

Para a determinação da acidez recorreu-se ao Regulamento CE nº2568/91. Tomou-se como resultado a média aritmética de duas determinações.

2.1.3.2.2. Análise por Espectrofotometria no Ultravioleta.

A Análise por Espectrofotometria no Ultravioleta foi determinada recorrendo ao regulamento CE nº2568/91.

O espectrofotómetro utilizado foi um PerkinElmer Lambda 40 UV/VIS, com uma célula de 1 cm de comprimento. Determinando assim o coeficiente de extinção (K).

2.1.3.2.3. O índice de Peróxidos

O índice de peróxidos (IP) foi determinado recorrendo ao regulamento CE nº2568/91. Tomou-se como resultado a média aritmética das duas determinações efectuadas.

2.1.3.2.4. A Rancidez ou Estabilidade Oxidativa

A rancidez foi determinada recorrendo à norma Portuguesa NP 4158 de 1991.

As medições foram efectuadas pelo método Rancimat (Rancimat 679, Metrohm Swiss). Determinou-se o período de indução em horas, nas amostras em duplicado, a uma temperatura de 110°C com um período de estabilização inicial de 10 min.

A entrada de ar teve um débito de 20L/h, foi utilizado o ar atmosférico.

2.1.3.2.5. Esteróis e álcoois triterpénicos

Os esteróis e álcoois triterpénicos, uvaol e eritrodiol, foram determinados segundo o regulamento CE nº2568/91.

Os esteróis quantificados foram colesterol, o campesterol, o estigmasterol, o β -sitosterol aparente, o Δ^7 -estigmaesterol e os esteróis totais (em mg/kg).

O β -sitosterol aparente é a soma dos valores de: β -sitosterol, Δ^5 – avenosterol, Δ^5 , 23 – estigmastafieno, clerosterol, sitostanol e Δ^5 , 24 – estigmastadienol.

O padrão interno utilizado no método foi 5 α -coletan-3 β -ol (Fluka).

Recorreu-se a um cromatógrafo Perkin-Elmer 8600. Utilizou-se uma coluna capilar Permabond SE-52 (Machery & Nagel) de 25 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e 0,25 μ m de espessura de filme. Operou-se nas seguintes condições: temperatura do injector 280 °C, modo *Split* a 1/50; gás de arraste o Hélio a uma pressão de 15 psig; temperatura do detector 320 °C. O forno trabalhou à temperatura isotérmica de 255°C, durante 40 min. A quantidade de amostra injectada foi de 0,6 μ L

Para registo e integração dos sinais cromatográficos utilizou-se o Software Turbochrom Navigator.

2.1.3.2.6. Ácidos gordos

Os ácidos gordos foram analisados segundo o regulamento CE nº2568/91.

A fracção contendo os ácidos gordos foi cromatografada por GC-FID, recorrendo-se a um cromatógrafo Perkin-Elmer 8600. Utilizou-se uma coluna capilar SPTM 2380 (Supleco) de 60 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,2 µm de espessura de filme. Operou-se nas seguintes condições: temperatura do injector 250°C em modo Split a 1/50; o gás de arraste o Hélio à pressão de 20 psig. O forno foi programado de 170°C (33 min) a taxa de aquecimento de 7,5 °C/min, até 200 °C (25 min). A Temperatura do detector foi de 260°C. A quantidade de amostra injectada foi de 0,75 µL.

Para registo e integração dos sinais cromatográficos utilizou-se o Software Turbochrom Navigator.

2.1.3.2.7. Ceras

Para as ceras utilizou-se o regulamento CE nº2568/91.

O padrão interno utilizado foi araquidato de laurilo (Sigma-Aldrich).

Após o fraccionamento, por cromatografia em coluna de sílica gel hidratada (Merck), procedeu-se à análise por cromatografia em GC-FID, recorrendo-se a um cromatógrafo Perkin-Elmer 8600. Utilizou-se uma coluna capilar SGL-5 (Sugelabor SA), 15 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e 0,10 µm de espessura de filme. Operou-se com Injector “on column” sendo o gás de arraste o Hélio, à pressão de 13 psig. O forno foi programado de 80 °C a 160 °C, à taxa de 25 °C/min e posteriormente de 160 °C a 330 °C (40 min) à taxa de 5 °C/min. A quantidade de amostra injectada foi de 1,50 µL

Para registo e integração dos sinais cromatográficos utilizou-se o Software Turbochrom Navigator.

2.1.3.2.8. Polifenóis

Para a determinação dos polifenóis utilizou-se o procedimento interno IT065 do Laboratório de Estudos Técnicos (LET), Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa (ISA, UTL). Este método baseia-se no método de Folin Ciocalteu (Folin *et al.*, 1927) em que os polifenóis reagem com reagentes de oxi-redução específico, formando um complexo de coloração azul, passível de ser quantificado por espectrofotometria no visível.

O espectrofotómetro utilizado para estas determinações foi um PerkinElmer Lambda 40 UV/VIS, sendo a célula utilizada de 1 cm de comprimento.

2.1.3.2.9. Triacilgliceróis

Separação dos triacilgliceróis de acordo com o respectivo número de átomos de carbono, por cromatografia líquida de alta resolução (*High Performance Liquid Chromatography* - HPLC), (Regulamento n°2568/91).

Recorreu-se a um cromatógrafo composto por um forno: PerkinElmer series 200, uma bomba Alltech 426, e um detector de índice de refração (IR) PerkinElmer. Utilizou-se uma Coluna LiChroCART 250-4 Superspher 100 RP-18 (Merck) – 250 mm de comprimento, 4 mm de diâmetro interior e tamanho de partícula de 4µm. Fase móvel a Acetona/Acetonitrilo (250/230; v/v), com fluxo de 1,5 mL/min. Temperatura do forno 35 °C. O tempo de corrida 60 min. Quantidade de amostra injectada foi de 10 µL.

Para registo e integração dos sinais cromatográficos utilizou-se o Software Turbochrom Navigator.

2.1.3.2.10. Tocoferóis

Os tocoferóis foram separados de acordo com método descrito por N. Cortesi e P. Rovellini (2002), por HPLC, com um detector de ultravioleta (HPLC-UV). O cromatógrafo era composto por um forno: PerkinElmer series 200, uma bomba Alltech 426, e um detector LC295 PerkinElmer UV/VIS. Utilizou-se uma Coluna LiChroCART 250-4 LiChrospher 100 RP18 (Merck) – 250 mm de comprimento, 4 mm de diâmetro interior e 4µm de tamanho de partícula. Fase móvel Solução A/B (40ml de A+960 mL de B) em que, Fase A é composta por água com 5% de ácido ortofosfórico (H₃PO₄) e a Fase B composta por Acetonitrilo/Metanol (1/1; v/v), fluxo de fase móvel 1,5 mL/min, temperatura do forno 21 °C; o tempo de corrida foi de 60 min; quantidade de amostra injectada 10 µL.

Para registo e integração dos sinais cromatográficos utilizou-se o Software Turbochrom Navigator.

2.1.3.2.11. Álcoois Alifáticos

O método adaptado para o doseamento dos álcoois alifáticos baseia-se no Regulamento CE nº2568/91, (ver 1.3.2.5. Esteróis, o uvaol+eritrodiol, capítulo II). É adicionando 1-eicosanol (Fluka) à matéria gorda, que é saponificada, o insaponificável é extraído com éter etílico (Panreac, PA), a fracção de álcoois é separada do extracto insaponificável por cromatografia de camada fina de gel de sílica (Merck, PA). Os álcoois recuperados são transformados em ésteres trimetilsilílicos e analisados por cromatografia. Utilizou-se um cromatógrafo HP 6890 Series GC System Plus+; equipado com a coluna capilar Rtx-5 (Restek), 30 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme. Operou-se nas seguintes condições: temperatura do injector a 270°C; injector em modo Split a 1/50; o gás de arraste Hélio com uma pressão de 15 psi. Temperatura do forno de 180°C durante 1 min e aumento de 8°C/min até 270°C durante 67 min; temperatura do detector 270°C; quantidade de amostra injectada foi de 1 µL

Para registo e integração dos sinais cromatográficos utilizou-se o Software HPCORE ChemStation.

2.1.3.2.12. Análise Sensorial

O método utilizado na análise sensorial segue o Regulamento CE nº2568/91. Este método classifica o azeite virgem numa escala numérica relacionada com a percepção dos estímulos do seu “*flavour*” segundo apreciação de um grupo de provadores seleccionados que constituem um júri/painel.

Foram utilizados os materiais recomendados:

- copos normalizados para as amostras, figura 2.6,
- vidros de relógio, para cobrir os copos,
- folha de pontuação (ver anexo IV),
- tabuleiros com rodela de maçã,
- copo com água à temperatura ambiente.

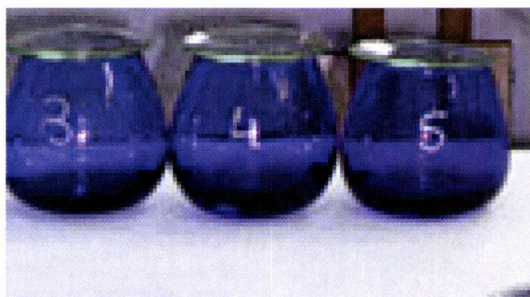


Figura 2.6
Copos de prova normalizados

Cada copo deve conter cerca de 15 mL de azeite, e as amostras de azeite a provar são mantidas à temperatura de $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

As provas foram realizadas na sala de provas do Instituto Superior de Agronomia, por membros do Painel de Provadores do Laboratório de Estudos Técnicos - LET do ISA.

De referir que a folha de prova utilizada para a avaliação sensorial dos azeites obtidos foi a mencionada no Regulamento (CEE) N.º 2568/91, uma vez ser este o regulamento que estava em vigor no início dos trabalhos e devido a diferença para o actual regulamento (Regulamento (CE) n.º 1989/2003) ser significativa optou-se pela manutenção dos critérios mencionados no primeiro.

2.1.3.2.13. Detecção electrónica de aromas por “Nariz Electrónico”

As amostras de azeite foram ainda analisadas recorrendo à detecção electrónica de amostras utilizando um aparelho FOX 3000, Alpha-Mos (ver figura 2.7).



Figura 2.7

Aparelho Fox da Alpha-Mos, conhecido por “Nariz Electrónico” (Foto cedida por Alpha-Mos).

As condições escolhidas para a análise das amostras de azeite são as apresentadas nas figuras 2.8 e 2.9.

Method

File - Windows - Help

Method Name : AZEITEMETODOESC Creator Name : MAINTENANCE Creation Date : 12/12/2003

HS 100 SAS

Incubation Time (s) 300

Incubation Temperature (°C) 40

Agitation Speed (rpm) 750

Syringe Type 2.5ml

Fill Speed (µl/s) 500.00

Syringe Temperature (°C) 45

Flushing Time (s) 120

Vial Type 10ml

SAS ☒

Injection Volume (µl) 500.00

Injection Speed (µl/s) 500.00

General Info

Figura 2.8

Condições de funcionamento do Aparelho Fox da Alpha-Mos, no sistema de incubação e injeção da amostra.

Method

File - Windows - Help

Method Name : AZEITEMETODOESC Creator Name : MAINTENANCE Creation Date : 12/12/2003

HS100 SAS

Acquisition Time (s) 120

Acquisition Period (s) 0.50

Delay (s) 480

Flow (ml/min) 150.00

Calibration File

General Info

Figura 2.9

Condições de funcionamento do Aparelho Fox da Alpha-Mos, no sistema de detecção

A quantidade de amostra em cada vial (10 mL) foi de 3 g, correspondente a cerca de um terço da capacidade do vial.

Utilizou-se o Ar Puro fornecido pela PRAXAIR (Praxair Portugal Gases SA), como gás de transporte; o aparelho possui um total de 12 sensores que abaixo se indicam (para mais informação sobre os sensores ver anexo V, tabela 6.9, figura 6.2 e 6.3):

Tipo P: PA2; P10/1; P10/2; P40/1.

Tipo T: T70/2; /30/1.

Tipo LY: LY/LG; LY/G; LY/AA; LY/Gh; Ly/gCTI; LY/gCT.

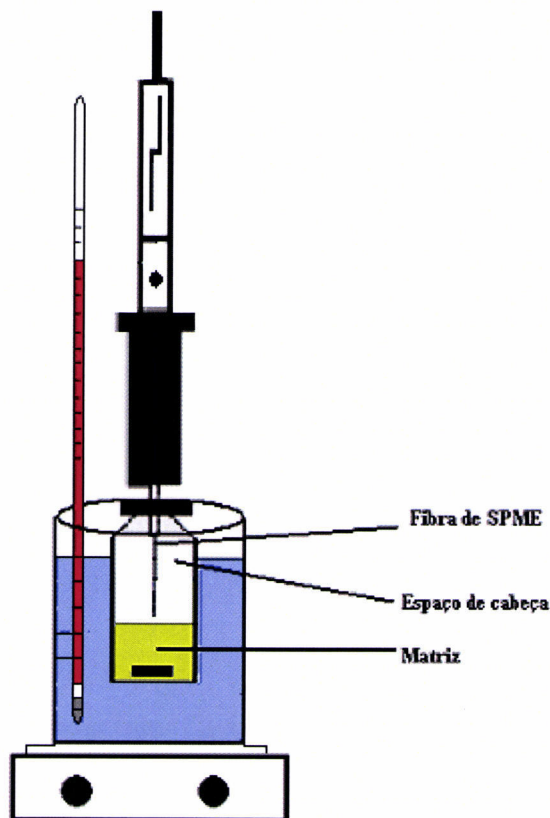
2.1.3.2.14. Extracção de voláteis por SPME-GC-MS

2.1.3.2.14.1. SPME

Em cada extracção, utilizaram-se viais escuros de 20 mL da Macherey-Nagel (Düren, Alemanha), nos quais se introduziram 12g de amostra.

A extracção foi feita no modo “espaço de cabeça” (*headspace*).

A figura 2.10 representa o esquema de montagem de SPME utilizado referindo as três fases envolvidas: matriz, o espaço de cabeça (*headspace*) e a fibra revestida. Entre estas fases são estabelecidas as respectivas interfaces: matriz/espaço de cabeça; o espaço de cabeça/revestimento da fibra, onde ocorre a transferência de massa dos compostos do aroma.

**Figura 2.10**

Esquema de montagem utilizado na extração dos compostos por SPME.

Para suporte da fibra, utilizou-se o dispositivo de SPME da Supelco Inc. (Bellefonte, Pennsylvania, EUA).

A utilização de vials escuros permite diminuir as alterações ao nível da amostra quando exposta à luz, durante a extração.

Utilizou-se como Padrão Interno (PI) o 4-metil-2-pentanol >99% ($C_6H_{14}O$) (CAS:108-11-2 da Acros Organics, Bélgica) diluído em n-pentano 99% (C_5H_{12}) da Panreac, a quantidade de solução adicionada ao azeite foi de 1 μ L. A concentração final de PI no vial contendo o azeite foi de 1,6 mg/L.

A quantificação recorreu ao Método do Padrão Interno.

Antes de cada extração, a fibra foi condicionada durante 10 min a 260°C.

Colocou-se a amostra em banho termostático a uma temperatura de 40°C (Soares, 2001) e submetida a agitação magnética a uma velocidade constante de 1000 rot/min. Antes da extração, as amostras foram homogeneizadas durante 5 minutos. O tempo de extração foi de 30 minutos (Vaz-Freire *et al.*, 2001; Servili *et al.*, 2003, Vaz-Freire *et al.*, 2005, Marques *et al.*, 2007).

Após a extracção a fibra foi imediatamente inserida, no injector. A temperatura de dessorção no injector foi ajustada a 260 °C (Soares, 2001; Vaz-Freire *et al.*, 2001), durante 5 minutos em modo *splitless*.

2.1.3.2.14.2. GC-MS

Para as análises com GC-MS foi utilizado um aparelho, Trace GC Thermo Finnigan (Thermo Unicam) acoplado ao detector de massa PolarisQ, com um sistema “*ion trap*” (armadilha de iões) no modo ionização electrónica (EI) (ver figura 2.11), a coluna capilar utilizada foi uma Rtx-WAX, com 60m de comprimento, 0,32 mm de D.I. e 0,5 µm de espessura de filme (Restek, Bellefonte, Pennsylvania). Injector 260 °C em modo *splitless* durante 5min; temperatura da fonte iónica 230 °C. Aquisição de massa no intervalo m/z 40-250. Ionização electrónica a 70 eV. Interface 230°C. O gás de arraste, Hélio a 15 psi. Forno programado de 50°C (3 min) com aumento de 2°C/min até 210°C (0 min), aumento de 40°C/min até 230°C (0 min).

Para registo e integração dos sinais cromatográficos utilizou-se o Software Excalibur (Thermo-Finnigan).



Figura 2.11

Foto do Cromatógrafo GC Thermo Finnigan acoplado ao detector de massa PolarisQ, da Thermo Unicam (foto cedida por Thermo Unicam).

2.1.3.2.15. Análise de voláteis por SPME-GC×GC-TOF-MS

2.1.3.2.15.1 SPME (GC×GC)

As condições de amostragem e de SPME são idênticas às descritas no ponto 2.1.3.2.14.1.

2.1.3.2.15.2. GC×GC/TOF-MS

As análises de GC×GC/TOF-MS foram realizados num cromatógrafo de gás HP 6890 (Agilent Technologies, Burwood, Austrália) acoplado a um espectrómetro de massa com detecção por tempo de voo (*“time-of-flight”* TOF-MS) Pegasus III (LECO, St. Joseph, MI, EUA). Foi utilizado um sistema modular criogénico longitudinal (*“longitudinally modulated cryogenic system”*, LMCS (Chromatography Concepts, Doncaster, Austrália) com um período de modulação de 6 s; temperatura da armadilha criogénica (*“cryotrap”*) de -20 °C.

O TOF-MS funcionou a uma capacidade de armazenamento de 100 Hz, utilizando um intervalo de massas entre 45–415 m/z, sendo a voltagem do amplificador de 1700V.

Os dados foram processados utilizando o software da LECO Corp ChromaTOF™.

As colunas utilizadas para o GC×GC (SGE International, Ringwood, Austrália) foram uma BPX5 (5% fenil-dimetil polisilfenileno-siloxane) com 30 m × 0,25 mm DI × 0,25 µm de espessura de filme, directamente acoplada a uma segunda coluna de BPX20 (polietileneglicol) com 1,5 m × 0,1 mm DI × 0,1 µm espessura de filme.

O forno operou à temperatura inicial de 35°C, durante 5 min, aumentou para 210°C a 3°C/min, seguido de nova rampa para 240°C a 40°C/min; 10 min a 240°C. Gás de arraste foi o Hélio com fluxo de 1,3 mL/min.

A interface para o sistema GC×GC/TOF-MS é uma coluna de sílica desactivada com 0.50 m e 0,1 mm de DI (0,21 m dentro da zona de transferência e 0,29 m dentro do forno) fornecida pela SGE International.

As análises referentes ao SPME-GC×GC-TOF-MS foram realizadas no laboratório de “Chromatography and Molecular Separations Group”, na Universidade RMIT, Melbourne, Austrália.

2.1.3.2.16. Identificação por imagem

A comparação pelo Software de Imagem - Image J, permite a utilização dos dados do cromatograma 2D GC×GC como se de uma impressão digital se tratasse.

Todos os cromatogramas obtidos foram transformados numa imagem 2D resultante dos dados GC×GC; estas imagens foram trabalhadas em formato *jpeg*, e divididas em 12 “pequenas” imagens tendo como critério a volatilidade e a polaridade.

Cada uma das 12 imagens foi avaliada com a utilização do software Image J (Image J 1.37v, National Institutes of Health, EUA), segundo o seguinte critério: para todas as imagens resultantes da análise por GC×GC-MS através do *software* da Leco foram armazenadas no formato *jpeg*, depois cada imagem foi trabalhada através do *software* ImageJ, e convertida numa escala cinzenta (8 bit) de 0 a 255, (em que 0 é preto, e 255 é branco, e cada ponto intermédio é uma escala de cinzentos). Depois *threshold* (limiar) foi definido automaticamente. Assim, todos os pixéis das imagens abaixo de determinado limiar foram marcados como preto, e acima do limiar foram marcados como brancos. A imagem binária deste procedimento foi assim transformada num valor quantificável. Permitindo a posterior compatação com os valores resultantes das áreas, *software* da Leco.

De forma semelhante se procedeu para trabalhar as imagens em função das cores *RGB*, com o intuito de potenciar a informação obtidas com as imagens 2D resultantes dos dados GC×GC.

2.1.3.2.17. Tratamento dos dados

Os valores apresentados para os azeites obtidos, são numa primeira fase comparados com o regulamento que classifica as características dos azeites e dos óleos de bagaço, Regulamento (CE) Nº 1989 de 2003.

Para a análise estatística utilizou-se a subrotina, análise de variância (ANOVA) “General Linear Model” (GLM), com um nível de significância de 95%, para determinação da normalidade da distribuição das variáveis utilizou-se o teste Shapiro-Wilk para verificação de pressupostos; foi verificada a avaliação sobre a homogeneidade de variâncias, entre grupos de variáveis, utilizando o teste de Levene. No caso de não se verificarem os pressupostos, utilizou-se um teste, semelhante, mas não paramétrico: Kuskal-Wallis, o software utilizado foi o Statistica 6.0 (Stat Soft Inc., EUA).

Os resultados obtidos por GCxGC-MS foram tratados com o software ImageJ (ImageJ 1.37v, National Institutes of Health, EUA) e transformados em valores quantificáveis que se comparam com as áreas obtidas. Os resultados foram comparados com uma ANOVA e estudou-se a concordância dos resultados com a metodologia de Tukey, recorrendo uma vez mais ao *software* Statistica 6.0.

Foi também efectuada uma análise de componentes principais (Principal Component Analysis, PCA) recorrendo ao mesmo *software*.

CAPÍTULO III

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Olival e condições meteorológicas

O clima, durante as quatro campanhas, manifestou oscilações, como se pode verificar no anexo I (região de Elvas, quadro 6.1 e 6.2), apesar de não terem sido consideradas diferenças significativas. Os factores com maior implicação na produção, quer sob o ponto de vista quantitativo, quer sob o ponto de vista qualitativo (desenvolvimento dos frutos), terão sido os baixos níveis de precipitação, principalmente nos meses de Maio e Junho das campanhas de 2001/02 e 2002/03. A falta de chuva, naqueles meses, levou a falta de água no solo nos meses de Julho e Agosto, com o consequente definhamento dos frutos. Este definhamento não foi significativo. De salientar ainda os valores baixos de precipitação total do ano 2004/2005, em que o decréscimo de pluviosidade se acentuou nos meses de Novembro e de Dezembro, apesar de já não ser de importância capital para a formação do azeite.

As temperaturas observadas (ver anexo I, quadro 6.1) ao longo dos anos de estudo não tiveram variações significativas, logo não terão tido impacto directo, quer na diferenciação floral, quer na floração, mas quando conjugadas com a pluviosidade poderão ter tido influência no maior ou menor desenvolvimento de pragas e doenças, principalmente mosca (*Bactrocera oleae*) e gafa (*Gloeosporium olivarum*) durante o período estudado.

Relativamente a Moura – não existem dados disponíveis semelhantes aos apresentados para Elvas, nos anos em que o trabalho decorreu, não houve pluviosidade, de forma a impedir a aplicação dos tratamentos, nem a realização da colheita, na época considerada oportuna. As variações relativamente a anos mais secos foram semelhantes às da Região de Elvas.

Tendo estes factores em consideração podemos assumir que as variações não foram significativas entre os vários anos de estudo, tal como aconteceu para a região de Elvas.

3.2. Parâmetros analisados para as Azeitonas

3.2.1. Controlo de pragas e doenças

No caso da infestação pela mosca da azeitona, é considerado um nível económico de ataque quanto à manifestação em cerca de 10% de frutos com formas vivas (Gomes *et al.*, 2003).

O ataque de gafa que se verificou nas azeitonas avaliadas, era inferior a 10% da superfície da azeitona. Na figura 3.1 A, representa-se a infestação máxima típica das azeitonas que foram objecto deste estudo.



Figura 3.1

Observação da evolução de contaminação de uma azeitona atacada de gafa. *A* - representa a infestação máxima típica das azeitonas que foram objecto deste estudo. (Adaptação de Barranco *et al.*, 2001).

O quadro 3.1 apresenta os resultados para os diversos parâmetros determinados nas azeitonas.

Quadro 3.1

Resultados de vários parâmetros determinados nas azeitonas durante os anos de estudo*. Média de três determinações.

Ano	Variedade	Peso em g de 100 azeitonas	Datas de colheita	Índice de Maturação	Mosca em %	Mosca com formação de galeria em %	Gafa em %	Humidade %	Gordura-RMN (m.o.) %	% de Gordura na Matéria Seca
2002	Carrasquenha (n=3)	406,0	21-11-2002	2,47	1	1	4	49,09	22,12	43,45
	Cobrançosa (n=3)	483,4	02-12-2002	4,48	10	3	3	54,12	18,63	40,59
	Galega Vulgar (n=3)	190,0	12-12-2002	4,6	8	2	10	43,9	27,28	48,62
2003	Carrasquenha (n=3)	410,5	17-12-2003	2,68	1	1	3	49,95	20,96	41,87
	Cobrançosa (n=3)	447,2	18-11-2003	4,16	14	3	3	57,41	14,77	34,67
	Galega Vulgar (n=3)	198,1	20-11-2003	4,67	1	0	6	46,38	24,04	44,83
2004	Carrasquenha (n=3)	427,2	24-11-2004	2,8	24	15	9	45,29	23,85	42,05
	Cobrançosa (n=3)	491,0	09-11-2004	4,4	31	8	13	54,86	15,75	34,89
	Galega Vulgar (n=3)	195,6	02-12-2004	4,5	10	2	60	46	21,85	40,46

* - A excepção é o ano de 2001, em que não foi possível apresentar resultados.

De acordo com os dados (quadro 3.1) não se verifica, ao contrário do já referido, relação directa entre a quantidade de infestação por mosca e gafa e a quantidade de gordura (Barranco *et al.*, 2001). O grau de infestação não é suficiente para condicionar a quantidade de azeite disponível.

A reprodutibilidade dos valores obtidos entre anos, para cada uma das variedades, foi verificado aplicando uma análise de variância. As variáveis, com homogeneidade de variâncias, foram analisadas por ANOVA, para análise de ocorrência de diferenças entre grupos e as variáveis, sem homogeneidade de variâncias, para análise de ocorrência de diferenças entre grupos (anexo II, quadro 6.3 a 6.5).

Nos casos em que, nos testes referidos anteriormente, se verifique existirem diferenças entre grupos, é necessário proceder-se a testes de comparação de médias em cada um desses grupos (análise ‘Pos-hoc’) (anexo II, tablas 6.6 a 6.8).

Quadro 3.2

Para análise de ocorrência de diferenças para cada uma das variedades ao longo dos anos de análise. Os valores apresentados são as médias de três determinações

Variedade Para os anos 2002, 2003 e 2004.	Peso em g de 100 azeitonas	Índice de Maturação	Mosca em %	Mosca com formação de galeria em %	Gafa em %	Humidade %	Gordura- RMN (m.o.) %	% de Gordura na Matéria Seca
Carrasquenha (n=3)	dns	dns	ds	ds	ds	dns	dns	dns
Cobrançosa (n=3)	dns	dns	ds	ds	ds	dns	ds	ds
Galega Vulgar (n=3)	dns	dns	ds	ds	ds	dsn	ds	ds

dns – diferenças não significativas

ds – diferenças significativas

Os resultados obtidos (quadro 3.2) permitem concluir que os parâmetros, peso e Índice de maturação, não variaram significativamente, em todas as variedades, para os anos testados.

3.3. Parâmetros analisados para os Azeites

Com o objectivo de prosseguir a harmonização, com as normas internacionais do Conselho Oleícola Internacional e do *Codex Alimentarius*, foi necessário rever certos valores limite relativos às características dos azeites e dos óleos de bagaços de azeitona constantes no Regulamento (CEE) n.º 2568/91 (regulamento que estava em vigor no início destes trabalhos). Relativamente às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, consideraram-se os valores actualizados no Regulamento (CE) N.º 1989/2003 (que se encontra em vigor nas últimas análises efectuadas).

Os parâmetros analisados para as amostras de azeite são geralmente divididos em dois grupos; critérios de qualidade e pureza.

3.3.1. Critérios de qualidade

Numa primeira fase apresentamos a avaliação para todos os azeites obtidos relativamente à sua classificação (quadro 3.3), tendo por base critérios de qualidade (figura 6.4 a 6.7 do anexo VI). Torna-se possível verificar quais os factores que contribuem para a respectiva classificação.

Quadro 3.3

Classificações para os critérios de qualidade dos diversos azeites, estudados tendo por base o Regulamento (CEE) N.º 2568/91 para o Exame organoléptico e o Regulamento (CE) N.º 1989/2003 para a Acidez, Índice de Peróxidos e Espectrofotometria

Ano	Variedade	Extracção	Repetição	Classificação do azeite
2001	Carrasquenha	Duas Fases	1	Lampante
			2	Lampante
			3	Lampante
		Prensas	1	Lampante
			2	Lampante
			3	Lampante
	Cobrançosa	Duas Fases	1	Lampante
			2	Lampante
			3	Lampante
		Prensas	1	Lampante
			2	Lampante
			3	Lampante
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	Azeite Virgem
			2	Azeite Virgem
			3	Azeite Virgem
		Prensas	1	Azeite Virgem
			2	Azeite Virgem
			3	Azeite Virgem
2002	Carrasquenha	Duas Fases	1	Azeite Virgem Extra
			2	Azeite Virgem Extra
			3	Azeite Virgem Extra
		Prensas	1	Azeite Virgem corrente
			2	Azeite Virgem
			3	Azeite Virgem corrente
	Cobrançosa	Duas Fases	1	Azeite Virgem Extra
			2	Azeite Virgem Extra

Quadro 3.3 (conclusão)

Classificações para os critérios de qualidade dos diversos azeites, estudados tendo por base o Regulamento (CEE) N.º 2568/91 para o Exame organoléptico e o Regulamento (CE) N.º 1989/2003 para a Acidez, Índice de Peróxidos e Espectrofotometria

		Extracção	Repetição	Classificação do azeite
			3	Azeite Virgem Extra
	Galega Vulgar	Prensas	1	Lampante
			2	Lampante
			3	Lampante
		Duas Fases	1	Azeite Virgem
			2	Azeite Virgem corrente
			3	Azeite Virgem corrente
	Galega Vulgar	Prensas	1	Azeite Virgem
			2	Lampante
			3	Azeite Virgem
2003	Carrasquenha	Duas Fases	1	Azeite Virgem Extra
			2	Azeite Virgem Extra
			3	Azeite Virgem Extra
		Prensas	1	Azeite Virgem corrente
			2	Azeite Virgem
			3	Azeite Virgem corrente
	Cobrançosa	Duas Fases	1	Lampante
			2	Azeite Virgem Extra
			3	Lampante
		Prensas	1	Lampante
			2	Lampante
			3	Lampante
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	Azeite Virgem
			2	Azeite Virgem
			3	Azeite Virgem
		Prensas	1	Lampante
			2	Lampante
			3	Azeite Virgem
2004	Carrasquenha	Duas Fases	1	Azeite Virgem Extra
			2	Azeite Virgem Extra
			3	Azeite Virgem Extra
		Prensas	1	Lampante
			2	Lampante
			3	Azeite Virgem Corrente
	Cobrançosa	Duas Fases	1	Lampante
			2	Lampante
			3	Azeite Virgem Extra
		Prensas	1	Lampante
			2	Lampante
			3	Lampante
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	Azeite Virgem
			2	Azeite Virgem
			3	Azeite Virgem Extra
		Prensas	1	Lampante
			2	Lampante
			3	Azeite Virgem Corrente

Tendo por base o Regulamento (CE) N.º 1989/2003:

- Acidez (% de ácido oleico) – Azeite Virgem Extra $\leq 0,8$; Azeite Virgem $\leq 2,0$; Azeite Lampante $> 2,0$
- Índice de peróxidos mEq O₂/kg – Azeite Virgem Extra ≤ 20 ; Azeite Virgem ≤ 20 ; Azeite Lampante > 20
- K232 (λ /(g/100ml) cm) – Azeite Virgem Extra $\leq 2,5$; Azeite Virgem $\leq 2,6$; Azeite Lampante $> 2,6$
- K270 (λ /(g/100ml) cm)– Azeite Virgem Extra $\leq 2,2$; Azeite Virgem $\leq 2,5$; Azeite Lampante $> 2,5$
- ΔK (λ /(g/100ml) cm)– Azeite Virgem Extra $\leq 0,01$; Azeite Virgem $\leq 0,01$; Azeite Lampante $> 0,01$

Tendo por base o Regulamento (CEE) N.º 2568/91:

- Exame organoléptico - Azeite Virgem Extra $\geq 6,5$; Azeite Virgem $\geq 5,5$; Azeite Virgem corrente $\geq 3,5$; Azeite Lampante $< 3,5$.

Tendo em consideração todos os parâmetros em apreciação verificaram-se grandes diferenças entre os entre azeites obtidos (para o critério definido).

Partindo dos dados expressos no quadro anterior e do anexo VII (quadro 6.10) foi possível fazer a análise estatística descritiva referida no quadro 3.4, onde é patente a heterogeneidade dos tipos de azeites obtidos.

Quadro 3.4

Análise descritiva para todos os valores obtidos por Acidez, K 232, K 270, Delta K, Análise Sensorial e Índice de Peróxidos

	N	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
Acidez (% de ácido oleico)	72	0,95	0,07	3,59	1,01
K 232 (λ /(g/100ml) cm)	72	1,86	1,26	2,85	0,35
K 270 (λ /(g/100ml) cm) (λ)	72	0,13	0,01	0,30	0,05
Delta K (λ /(g/100ml) cm)	72	-0,0001	-0,009	0,013	0,004
Análise Sensorial (pontuação)	72	5,6	2	8	1,5
Índice Peróxidos (mEq O ₂ /kg)	72	16,8	6	39,4	7,8

Uma vez que os pressupostos não se verificaram para a aplicação da ANOVA como método de análise, nomeadamente pelo teste F de Levene. Aplicou-se o teste de

Kruskal-Wallis. Nas figuras 6.8 a 6.25 do anexo VIII, apresentamos os mesmos resultados para as três variedades.

Se compararmos o quadro 3.3, onde estão referidos os critérios de qualidade, com os valores dos diferentes níveis de infestação (quadro 3.1), verifica-se que nos anos em que as azeitonas foram mais atacadas pela gafa, por exemplo, a Galega Vulgar 2004, foi possível obter um azeite da qualidade máxima tendo em linha de conta exclusivamente os critérios de qualidade do Regulamento (CE) N.º 1989/2003, verificando-se o mesmo para a infestação por mosca. Este resultado poderá estar associado ao grau de infestação por parte de gafa, que não é muito acentuado (percentagem da superfície da azeitona atingida), por um lado e por outro ao reduzido número de formação de galerias por parte da mosca (que provocam consideravelmente mais danos à azeitona).

O quadro 3.5, exprime a ausência de correlações entre os parâmetros de qualidade, acidez, absorvências, análise sensorial e índice de peróxido, com os parâmetros analisado para o estado sanitário das azeitonas.

Quadro 3.5

Comparação das correlações entre os parâmetros de qualidade, com os parâmetros analisado para o estado sanitário das azeitonas.

São significantes se $p < ,05000$. $N=27$.

	Mosca em %	Mosca com formação de galeria em %	Gafa em %
Acidez	-0,059	-0,085	-0,056
K 232	0,506	0,190	-0,294
K 270	-0,134	-0,353	-0,236
Delta K	0,113	0,023	0,191
Análise sensorial	0,331	0,218	-0,225
Índice Peróxido	0,516	0,306	-0,272

Relacionando os valores determinados para os parâmetros qualitativos (ver quadro 6.10 do anexo VII), verificou-se a existência de diferenças significativas entre os azeites obtidos pelo método das prensas e pelo método das duas fases (anexo VII, figuras 6.8 a 6.25). Estas diferenças podem ser observadas para os parâmetros qualitativos acidez e análise sensorial, para as cultivares Carrasquenha e Cobrançosa, e para os parâmetros acidez e absorvência K 232, no caso da variedade Galega Vulgar.

A atribuição de classificação lampante aos azeites, provenientes da cultivar Carrasquenha e Cobrançosa (2001) pode ser atribuível, ao índice de Peróxidos (quadro 3.3 e anexo VII quadro 6.10), mais elevado que nos anos anteriores. Este resultado pode ser reflexo da necessidade, em termos logísticos, de se ter procedido à congelação das amostras antes da extracção do azeite. A congelação das azeitonas pode ter provocado a quebra das células da azeitona, pela formação dos cristais de gelo, potenciando a oxidação do azeite, e consequentemente o elevado teor de peróxidos.

A aplicação de análise de componentes principais, aos parâmetros considerados como índices de qualidade, permitiu obter uma discriminação de 79,55%, sendo 51,32% da variância total descrita pela primeira componente principal (PC1) e 28,23% pela segunda componente principal (PC2).

Da análise da figura 3.2 e da figura 3.3, verifica-se que a acidez e a análise sensorial são os parâmetros que melhor caracterizam os azeites, associando a tecnologia da prensas a teores de acidez mais elevado e as maiores pontuações da análise sensorial com os azeites obtidos por centrifugação de duas fases.

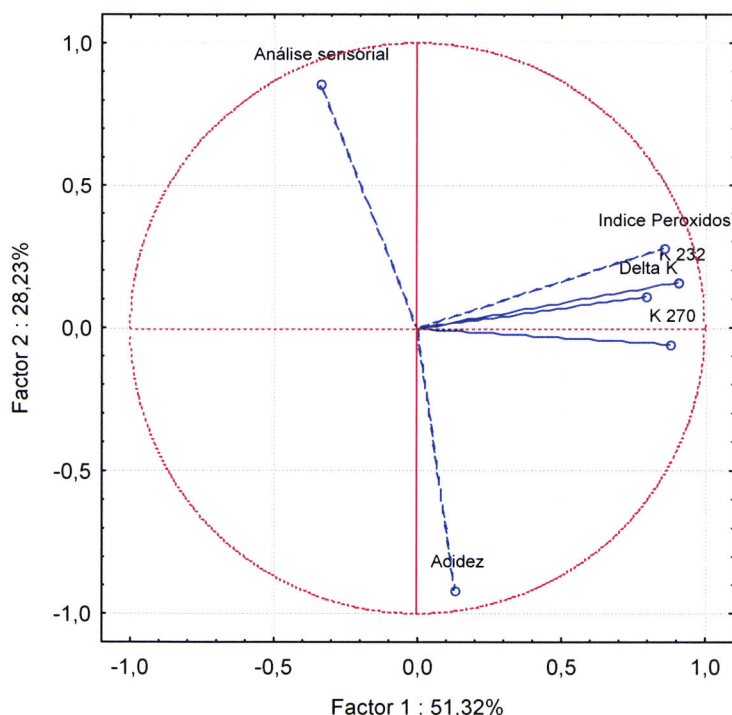


Figura 3.2

Gráfico que projecta as variáveis da análise de componentes principais dos factores considerados parâmetros de qualidade.

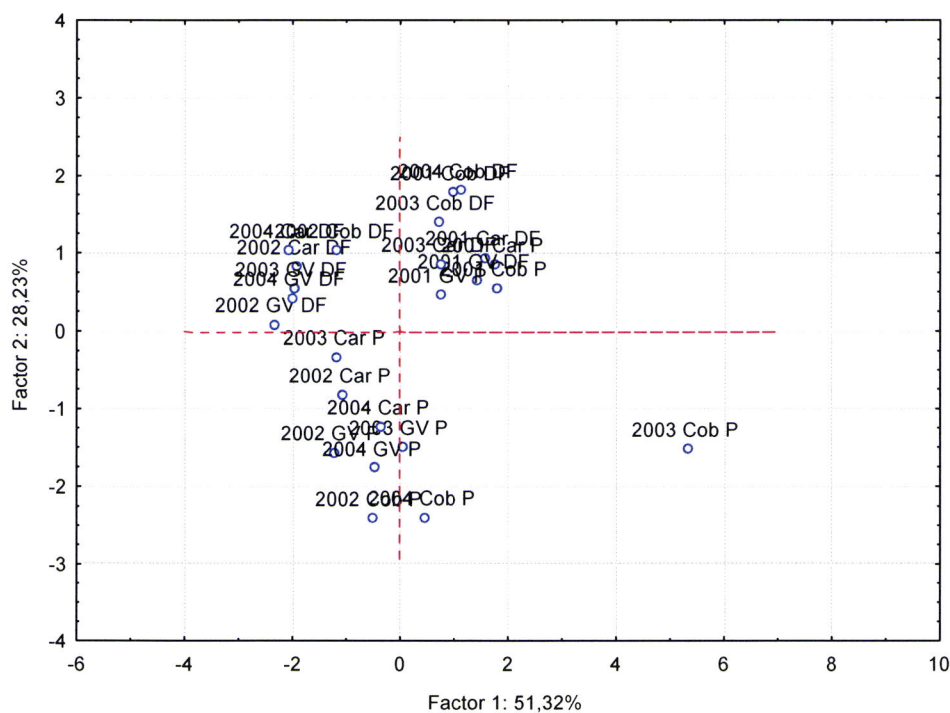
**Figura 3.3**

Gráfico que projecta as médias dos azeites (n=3) de acordo com a análise de componentes principais dos factores considerados parâmetros de qualidade.

Em que : Car – Carrasquenha; Cob – Cobrançosa; GV – Galega Vulgar; DF – Duas Fases; P – Prensas.

3.3.2. Critérios de pureza

Um outro ponto de vista, contemplado neste estudo, foram os critérios de pureza. Apesar da garantia de não existir qualquer tipo de adição ilícita aos azeites devem ser tidos em linha de conta estes factores pois são dados importantes da caracterização, permitindo uma avaliação mais substancial dos métodos de extracção utilizados. Vários foram os parâmetros analisados: esteróis, álcoois triterpénicos, ácidos gordos, triacilgliceróis, estabilidade oxidativa, polifenóis, tocoferóis, ceras, álcoois alifáticos.

3.3.2.1. Esteróis e álcoois triterpênicos

Da análise dos resultados globais (anexo VIII, quadro 6.12) conclui-se que, com este critério, todos os azeites analisados se podem classificar como Azeites Virgem Extra, considerando o Regulamento (CE) N.º 1989/2003, para este parâmetro.

Recorrendo a uma análise de variância paramétrica ANOVA (figura 3.4), verifica-se não existirem diferenças significativas entre os dois métodos de extracção para a cultivar Carrasquenha (anexo X quadro 6.18).

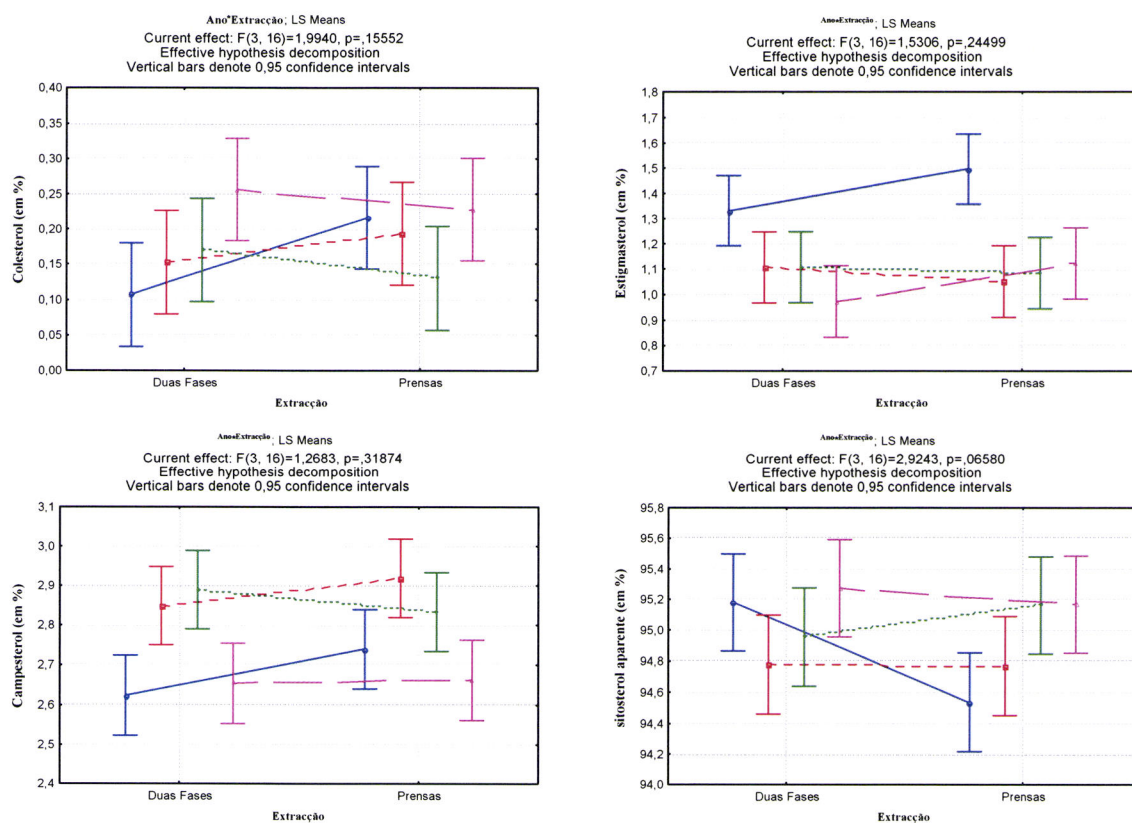


Figura 3.4

Análise de comparação ANOVA para os vários esteróis (em % e esteróis totais em mg/kg) e álcoois triterpênicos (em %), para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, a interacção Ano*Extracção. As barras verticais expressão um intervalo de confiança de 0,95.

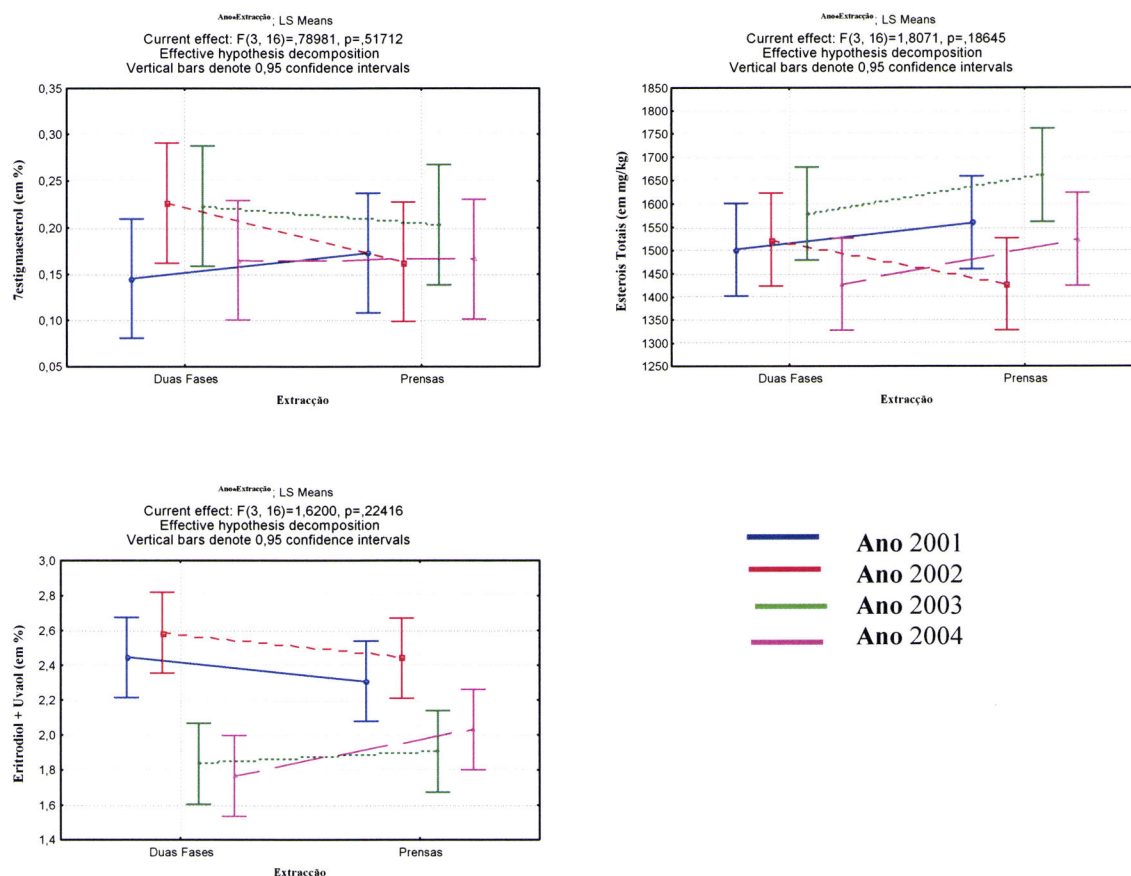


Figura 3.4 (conclusão)

Análise de comparação ANOVA para os vários esteróis (em % e esteróis totais em mg/kg) e álcoois triterpénicos (em %), para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, a interacção Ano*Extracção. As barras verticais expressão um intervalo de confiança de 0,95.

Para a cultivar Cobrançosa (figura 3.5, para os resultados globais ver anexo X quadro 6.19), verificou-se a existência de diferenças significativas entre os vários valores de esteróis nomeadamente para o campesterol, no qual os valores obtidos na extracção por prensas variam, significativamente, dos valores de azeites extraídos por centrifugação; para o estigmaesterol, os valores de 2002 são significativamente diferentes dos restantes anos.

De referir que os valores de campesterol obtidos estão dentro dos limites legais (Regulamento (CE) N.º 1989/2003), apesar de na bibliografia se encontrarem valores que, para determinadas cultivares, excedem o referido limite, nomeadamente a cultivar espanhola Cornicabra (Rivera del Álamo *et al.*, 2004). Este factor não depende da sazonalidade, da área geográfica e do método de extracção utilizado, tão pouco da fase de maturação. Tendo em consideração esta informação, alguns autores

sugeriram que o perfil de esteróis, utilizados para classificar os azeites virgens, deveria depender da variedade das azeitonas que lhes dão origem (Aparicio *et al.*, 1997; Ranalli *et al.*, 2002).

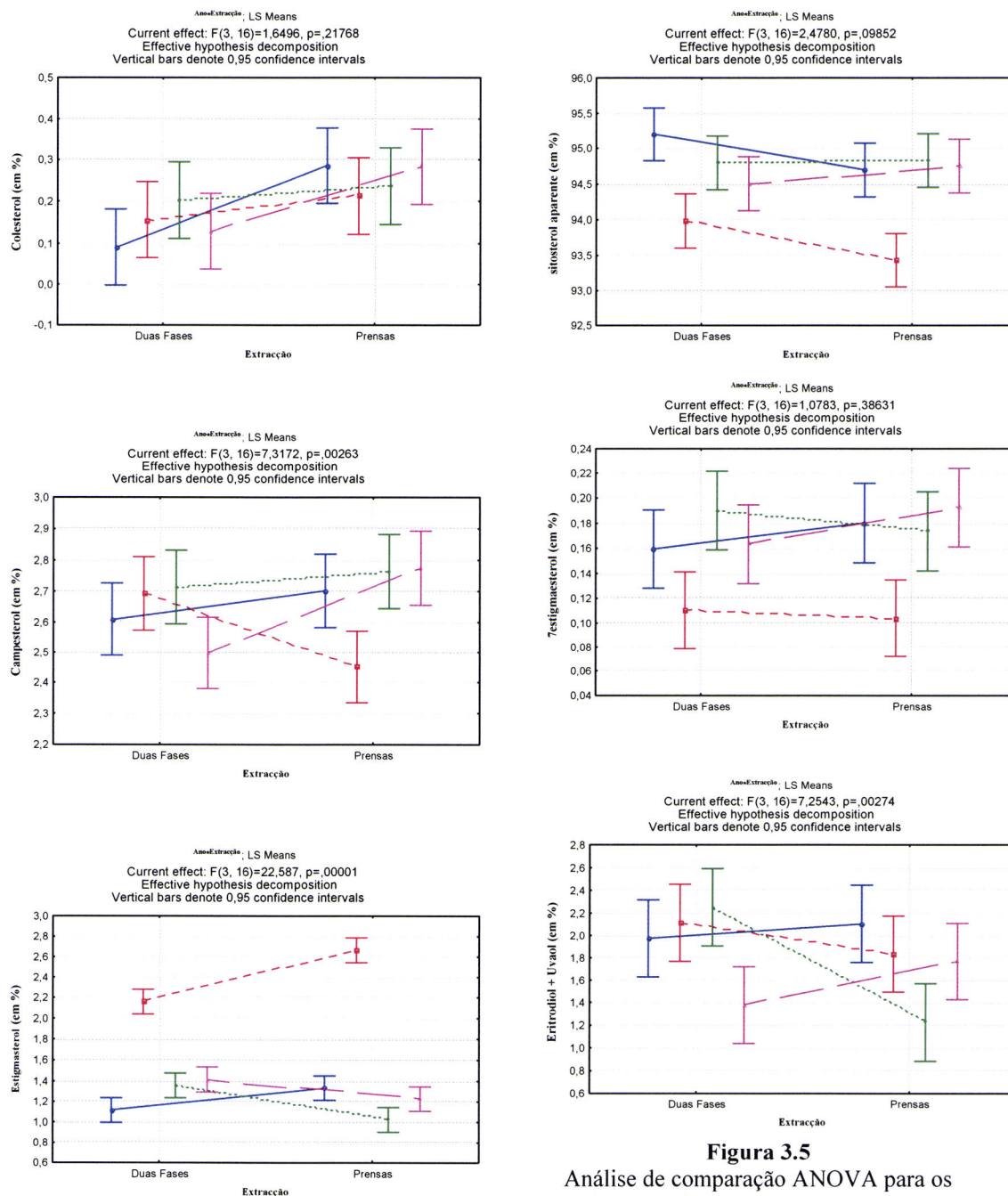


Figura 3.5

Análise de comparação ANOVA para os vários esteróis (em % e esteróis totais em mg/kg) e álcoois triterpénicos (em %), para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, a interacção Ano*Extracção. As barras verticais expressão um intervalo de confiança de 0,95.

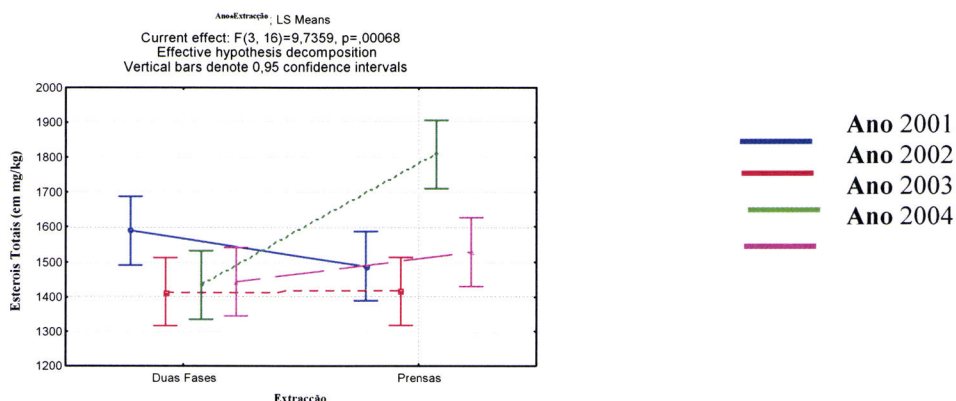


Figura 3.5 (conclusão)

Análise de comparação ANOVA para os vários esteróis (em % e esteróis totais em mg/kg) e álcoois triterpénicos (em %), para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, a interacção Ano*Extracção. As barras verticais expressão um intervalo de confiança de 0,95.

No caso da cultivar Galega Vulgar (para os resultados globais ver anexo X quadro 6.20), existem algumas diferenças significativas entre os vários valores de esteróis, nomeadamente o estigmaesterol apresenta algumas diferenças, pontuais, mas sem padrão definido, para os álcoois triterpénicos, eritrodiol + uvaol verificam-se diferenças significativas, mas sem padrão, outra das diferenças significativas é o teor de esteróis totais. Os valores de 2001 são claramente diferentes dos anos que o precedem, este facto pode dever-se ao facto das azeitonas terem sido congeladas apesar do o mesmo não se ter verificado nas outras cultivares estudadas, ou para outro factor ligado ao estado da azeitona.

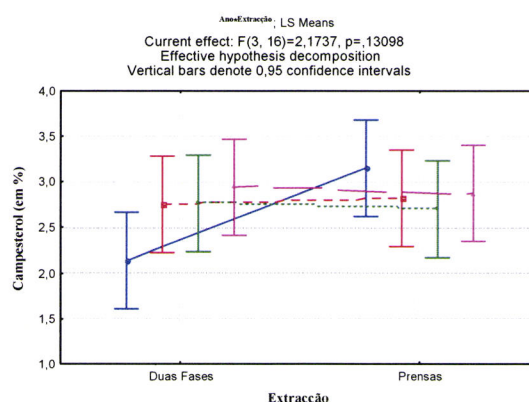
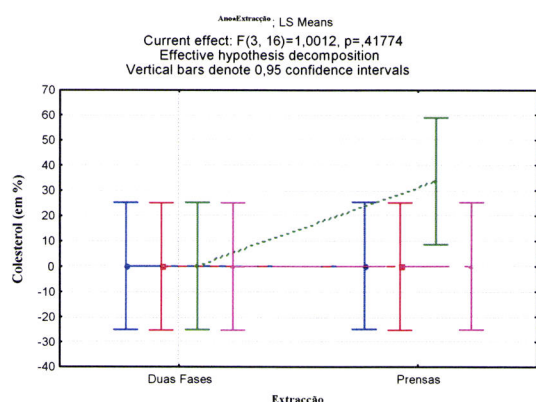


Figura 3.6

Análise de comparação ANOVA para os vários esteróis (em % e esteróis totais em mg/kg) e álcoois triterpénicos (em %), para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, a interacção Ano*Extracção. As barras verticais expressão um intervalo de confiança de 0,95.

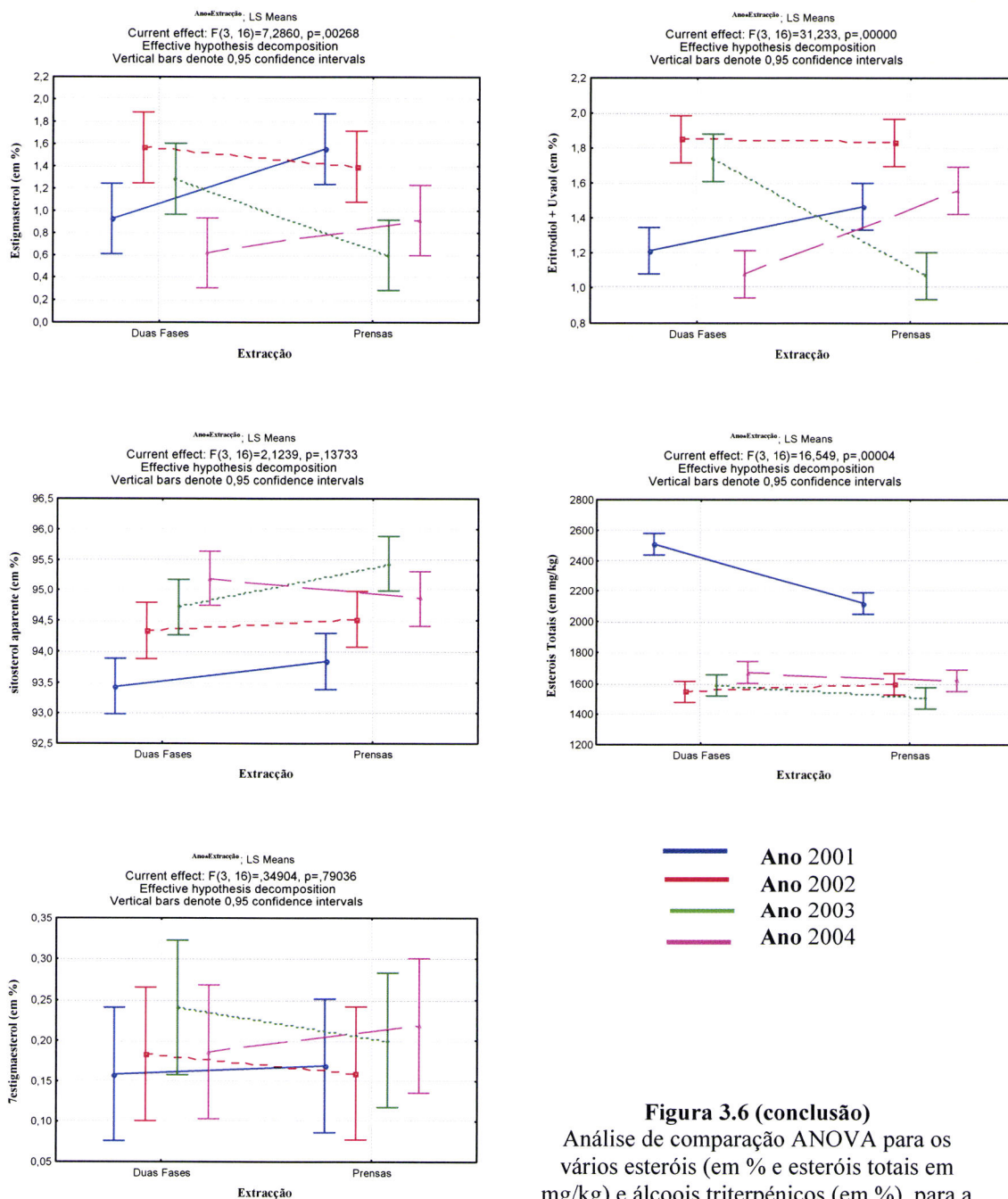


Figura 3.6 (conclusão)
 Análise de comparação ANOVA para os vários esteróis (em % e esteróis totais em mg/kg) e álcoois triterpênicos (em %), para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, a interacção Ano*Extracção. As barras verticais expressão um intervalo de confiança de 0,95.

Por outro lado, recorrendo à análise de componentes principais, verifica-se que os esteróis analisados não contribuem para uma separação que diferencie os métodos de extracção em análise (figura 3.7 e 3.8), considerando apenas as médias das extracções, em que com duas componentes principais é possível obter uma discriminação de 62,44%, sendo 35,13% da variância total descrita pela primeira componente principal (PC1) e 27,31% pela segunda componente principal (PC2).

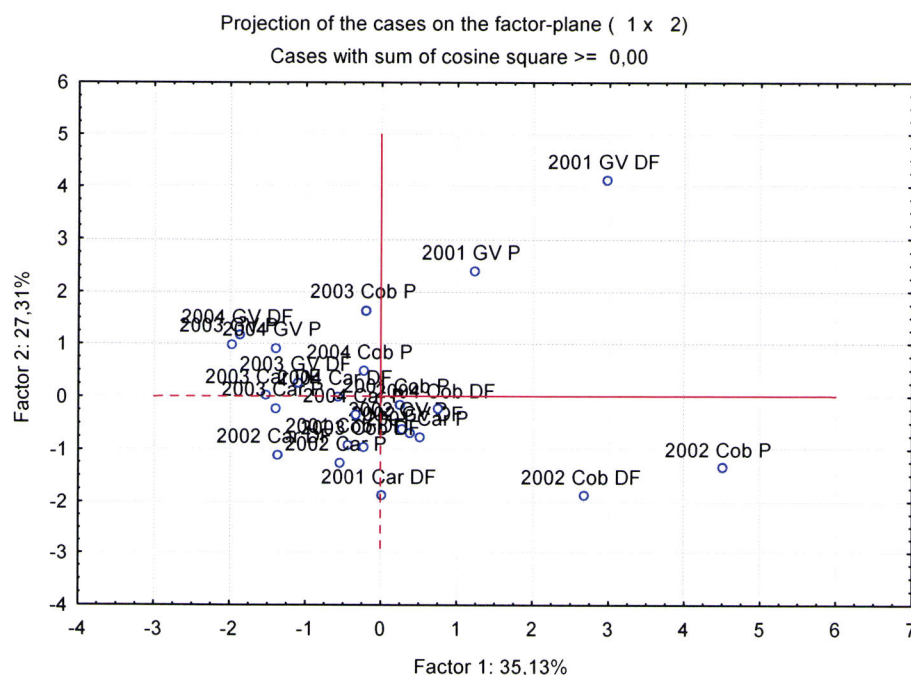


Figura 3.7

Gráfico que projecta as médias dos azeites (n=3) de acordo com a análise de componentes principais dos factores considerados para os esteróis.
Em que : Car – Carrasquenha; Cob – Cobrançosa; GV – Galega Vulgar; DF – Duas Fases; P – Prensas.

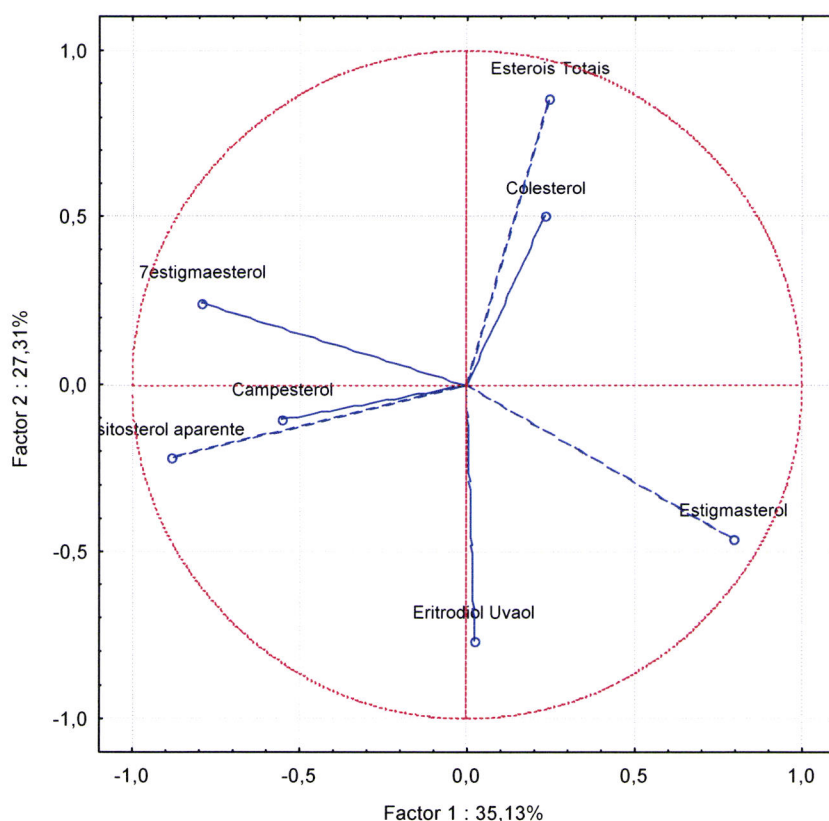
**Figura 3.8**

Gráfico que projecta as variáveis da análise de componentes principais dos factores considerados para os esteróis.

3.3.2.2. Ácidos gordos

Outro dos critérios de pureza considerado foi o teor de ácidos gordos, (quadro 6.12 do anexo IX). Todos os azeites ficaram incluídos na categoria de azeites virgem extra uma vez que os teores obtidos, para todos os ácidos gordos testados e para a soma dos isómeros *trans*linoleicos + *trans*linolénicos (C18:2 + C18:3), foi inferior a 0,05, tal como imposto pelo Regulamento (CE) N.º 1989/2003; no regulamento anterior Regulamento (CEE) N.º 2568/91 esta soma teria de ser inferior a 1,0. Esta mudança no regulamento visa, não só o combate a práticas menos correctas na extracção dos azeites e/ou a fraudes, tais como a adição de azeites refinados a azeites virgens, como também ao facto (Candeias, 2008), de estes ácidos gordos serem muito prejudiciais para a saúde (mais ainda do que a gordura saturada), porque aumentam os níveis sanguíneos de colesterol *LDL* (lipoproteína de baixa densidade), “mau colesterol”, e triglicerídeos, e diminuem os de colesterol *HDL* (lipoproteína de alta densidade), “bom colesterol”, estando portanto, associadas a uma maior incidência de doenças cardíacas e vasculares.

Apenas 1% do valor energético total diário (no máximo), pode corresponder a estas gorduras.

As principais fontes alimentares dos ácidos gordos *trans*, são os alimentos que contêm gordura hidrogenada e os cozinhados em óleos vegetais submetidos a um sobreaquecimento. Assim, a classificação comercial para o azeite virgem teve também em consideração este facto.

Recorrendo a uma análise de variância não paramétrica ANOVA (quadro 3.6 e anexo X, figura 6.26 a 6.70), verificou-se que não existem diferenças significativas entre os dois métodos de extracção para a cultivar Galega Vulgar; para as cultivares Carrasquenha e Cobrançosa verifica-se que existem diferenças significativas para o ácido mirístico (C:14), ácido margárico (C17:0) e ácido heptadecenoico (C17:1).

Quadro 3.6

Análise de variância não paramétrica Kruskal-Wallis ANOVA, para os ácidos gordos, para a variável independente, extracção.

		Carrasquenha	Cobrançosa	Galega Vulgar
Ácido Mirístico	C14:0	ds	ds	dns
Ácido palmítico	C16:0	dns	dns	dns
Ácido palmitoleico	C16:1	dns	dns	dns
Ácido Margárico	C17:0	ds	ds	dns
Ácido heptadecenoico	C17:1	ds	ds	dns
Ácido esteárico	C18:0	ds	dns	dns
Ácido Oleico	C18:1	dns	dns	dns
Ácido linoléico	C18:2	dns	dns	dns
Ácido Araquídico	C20:0	dns	dns	dns
Ácido Linolénico	C18:3	dns	dns	dns
Ácido Eicosenoico	C20:1	dns	dns	dns
Ácido Beénico	C22:0	dns	dns	dns
Ácido Lignocérico	C24:0	dns	dns	dns
Soma dos isómeros <i>trans</i> oleicos	T C18:1	dns	dns	dns
Soma dos isómeros <i>trans</i> linoleicos + <i>trans</i> linolénicos	T C18:2 + T C18:3	ds	dns	dns

dns – diferenças não significativas

ds – diferenças significativas

A análise de componentes principais, quando aplicada às médias das extracções, mostra que, com apenas duas componentes principais, é possível obter uma discriminação de 52,36%, sendo 31,60% da variância total descrita pela primeira componente principal (PC1) e 20,76% por PC2.

Da análise da figura 3.9 verificamos que existe uma tendência para a separação entre variedades, independentemente do tipo de extracção ou ano de colheita, mostrando que o perfil de ácidos gordos poderá, eventualmente, vir a ser utilizado para caracterização de cultivares, tal como verificado por outros (Gouveia, 1995).

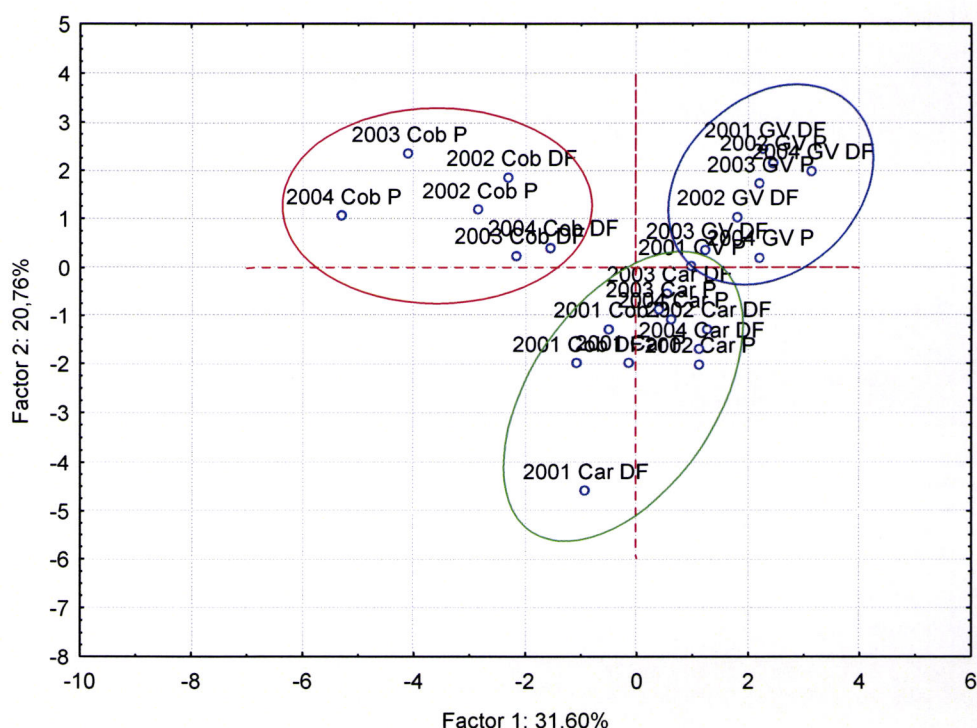


Figura 3.9

Gráfico que projecta as médias dos azeites (n=3) de acordo com a análise de componentes principais dos factores considerados, teores de ácidos gordos.

Em que : Car – Carrasquenha; Cob – Cobrançosa; GV – Galega Vulgar; DF – Duas Fases; P – Prensas.

3.3.2.3. Triacilgliceróis

Relativamente aos triacilgliceróis determinados, verifica-se que os teores de LLL (trilinoleína) se encontram no intervalo definido pelo Regulamento (CEE) N.º 2568/91 (ver quadro 6.13, anexo IX).

A análise de componentes principais, para os triacilgliceróis analisados, considerando as médias dos valores das extracções, apresenta uma discriminação de 64,39%, sendo 46,77% da variância total descrita pela primeira componente principal (PC1) e 17,58% por PC2 (figura 3.10).

Da análise da figura 3.11, verifica-se existir uma tendência para a separação entre variedades, independentemente do tipo de extracção ou ano de colheita, o que parece indicar que o perfil de triacilgliceróis poderá ser utilizado na caracterização de cultivares, esta afirmação é mais evidente para as cultivares Carrasquenha e Galega Vulgar (Aranda *et al.*, 2004; Aued-Pimentel *et al.*, 2008).

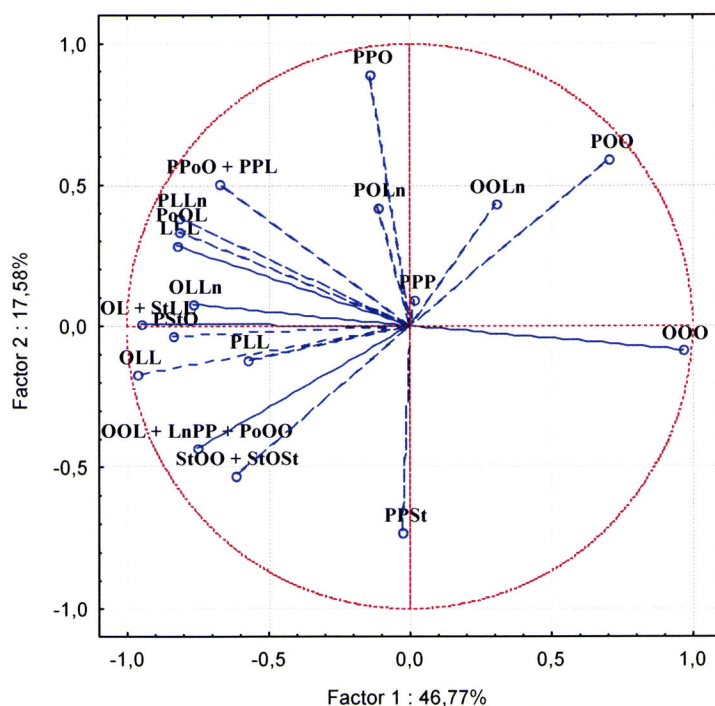


Figura 3.10

Gráfico que projecta as variáveis da análise de componentes principais dos factores considerados para os triacilgliceróis.

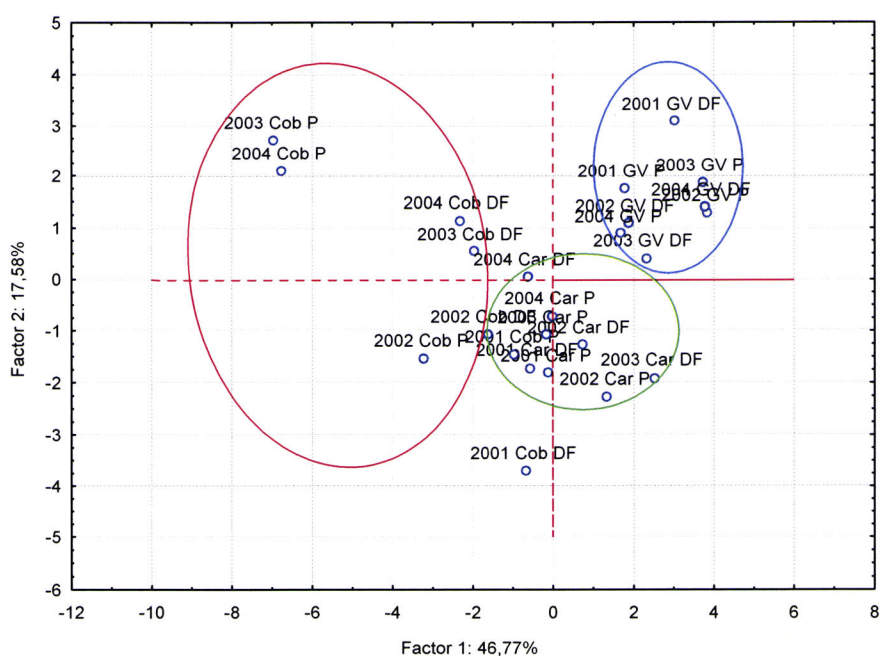


Figura 3.11

Gráfico que projecta as médias dos azeites (n=3) de acordo com a análise de componentes principais dos factores considerados, teores de triacilgliceróis.

Em que : Car – Carrasquenha; Cob – Cobrançosa; GV – Galega Vulgar; DF – Duas Fases; P – Pressas.

As figuras 3.10 e 3.11, por outro lado indicam a inexistência de diferenças entre métodos de extracção

3.3.3.4. Estabilidade oxidativa

O estado de oxidação e a resistência à oxidação são factores que influenciam, de forma decisiva, a qualidade do azeite. O teste da rancidez permite avaliar a resistência à oxidação.

O tempo necessário para uma deterioração rápida é designado por tempo de indução. O tempo de indução expresso em horas, determinado nas condições específicas da metodologia, indica a resistência à oxidação.

No quadro 3.7 é possível verificar as diferentes resistências à oxidação para os diversos azeites.

Quadro 3.7
Valores obtidos para a resistência oxidativa para todos os azeites*

Ano	Variedade	Extracção	Repetição	Resistência à Oxidação (em h)
2002	Carrasquenha	Duas Fases	1	15,9
			2	16,7
			3	16,7
		Prensas	1	8,7
			2	9,5
			3	10,5
	Cobrançosa	Duas Fases	1	9,8
			2	11,1
			3	9,5
		Prensas	1	6,6
			2	8,3
			3	9,2
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	19,4
			2	21,6
			3	22,1
		Prensas	1	11,4

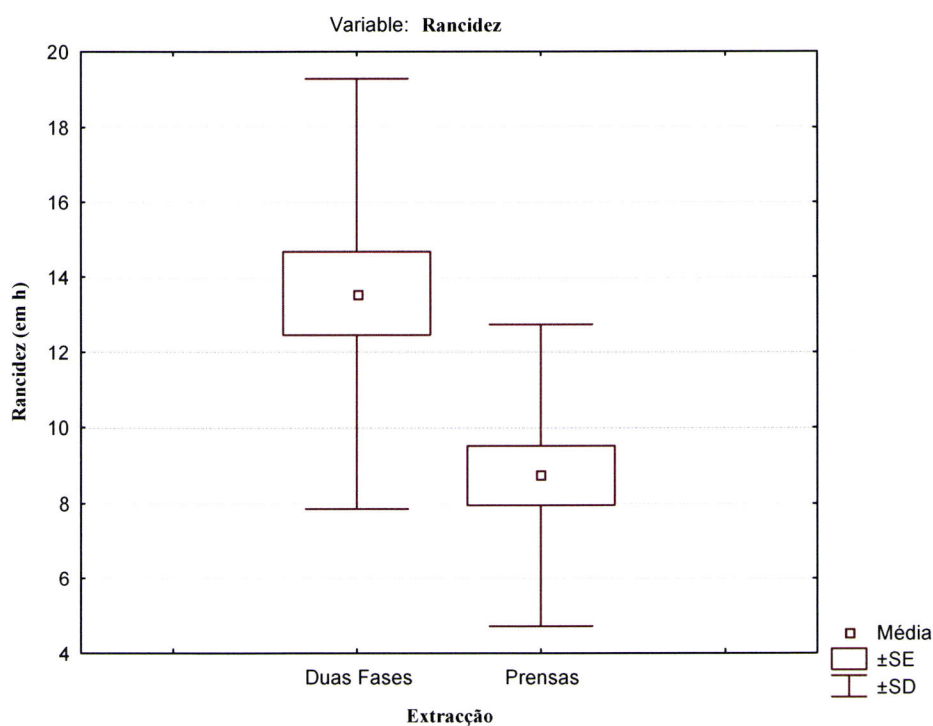
Quadro 3.7 (conclusão)

Valores obtidos para a resistência oxidativa para todos os azeites*

Ano	Variedade	Extracção	Repetição	Resistência à Oxidação (em h)
2003	Carrasquenha	Duas Fases	2	10,1
			3	12,9
			1	2,8
		Prensas	2	2,3
			3	14,2
			1	11,5
	Cobrançosa	Duas Fases	2	14,9
			3	15,8
			1	8,2
		Prensas	2	12,4
			3	7,9
			1	3,3
	Galega Vulgar	Duas Fases	2	0,6
			3	0,7
			1	18,0
		Prensas	2	24,9
			3	21,0
			1	13,8
2004	Carrasquenha	Duas Fases	2	14,7
			3	10,8
			1	8,6
		Prensas	2	11,1
			3	11,0
			1	3,7
	Cobrançosa	Duas Fases	2	7,4
			3	8,9
			1	8,6
		Prensas	2	11,1
			3	11,0
			1	3,7
	Galega Vulgar	Duas Fases	2	7,4
			3	8,9
			1	16,5
		Prensas	2	17,2
			3	17,0
			1	6,6
			2	6,7
			3	9,3

*Por razões logísticas não foi possível determinar os valores de 2001.

Considerando todas as variedades (quadro 3.7) pode-se verificar, pela análise não paramétrica se Kruskal-Wallis ANOVA, que existem diferenças significativas entre os métodos de extracção (figura 3.12). Várias podem ser as causas destas diferenças, a maior exposição da pasta na formação do castelo, antes da prensagem, e/ou o contacto com a água, no processo de decantação.

**Figura 3.12**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Resistência Oxidativa, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis : $H(1, N=54) = 10,24630$ $p = ,0014$
 SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Verificou-se como é expresso na figura 3.13 e no quadro 3.8 que existem diferenças significativas, entra a cultivar Cobrançosa e Galega Vulgar.

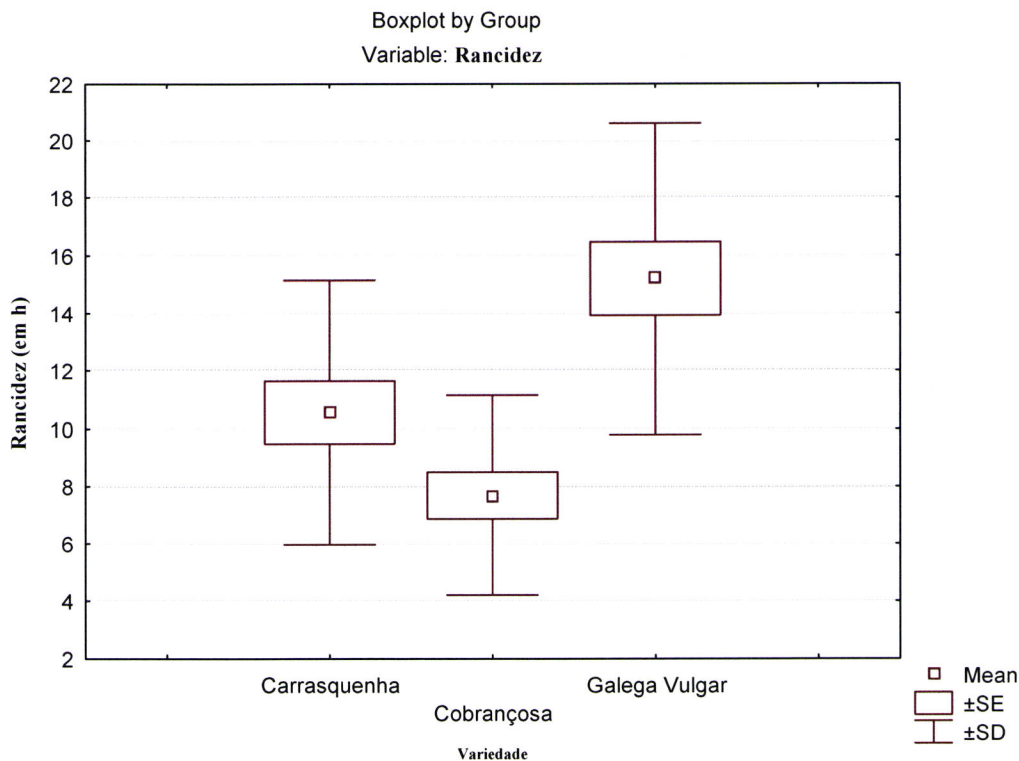


Figura 3.13

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Resistência Oxidativa, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Quadro 3.8

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Resistência Oxidativa (em h), para as variedades Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

	p-level	Mean - Car	Mean - Cob	Std.Dev. - Car	Std.Dev. - Cob	Valid N - Car	Valid N - Cob
Rancidez	p > .10	10,56583	7,681389	4,600130	3,481687	18	18
	p-level	Mean - Car	Mean - GV	Std.Dev. - Car	Std.Dev. - GV	Valid N - Car	Valid N - GV
Rancidez	p > .10	10,56583	15,20806	4,600130	5,407503	18	18
	p-level	Mean - Cob	Mean - GV	Std.Dev. - Cob	Std.Dev. - GV	Valid N - Cob	Valid N - GV
Rancidez	p < .001	7,681389	15,20806	3,481687	5,407503	18	18

Mean – Média; Std. Dev. – Desvio Padrão

Por outro lado, tal como refere Henriques *et al.*, (2001), foi também possível constatar que a resistência oxidativa e o ácido oleico (C18:1), variam, inversamente com o ácido linoleico (C18:2) e o ácido linolénico (C18:3), o que mostra o papel determinante que o aumento dos ácidos gordos polinsaturados têm na diminuição da resistência à oxidação dos azeites. No quadro 3.9, essa correlação não é evidente.

Quadro 3.9
Correlação entre a Resistência Oxidativa, C18:1, C18:2 e C18:3, para as variedades Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar.
N=72

	Rancidez	C18:1	C18:2	C18:3
Rancidez	1,00	0,32	-0,36	-0,40
C18:1	0,32	1,00	-0,91	-0,72
C18:2	-0,36	-0,91	1,00	0,53
C18:3	-0,40	-0,72	0,53	1,00

3.3.3.5. Polifenóis

Os valores para os polifenóis obtidos para as três variedades estudadas, estão expressos no quadro 6.14, anexo IX, e são resultantes da aplicação, procedimento interno IT065 (Lab. Azeites, ISA - UTL).

Pode-se verificar, após aplicação da análise não paramétrica Kruskal-Wallis ANOVA, (figura 3.14) que não existem diferenças significativas entre os dois métodos de extracção.

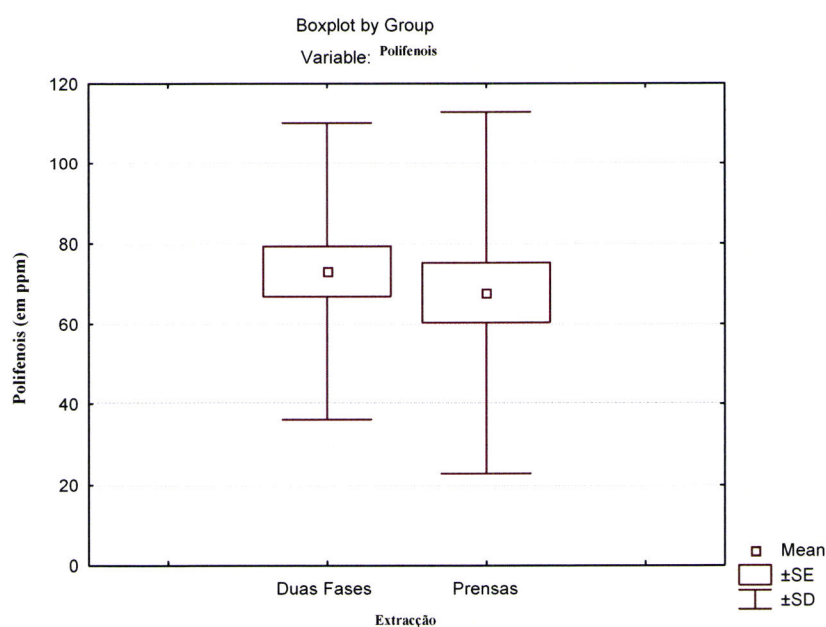


Figura 3.14

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o teor de polifenóis (em ppm), para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis : $H(1, N=72)=1,108895$ $p=,2923$
Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Da comparação das três cultivares foi possível verificar, tal como é expresso na figura 3.15 e no quadro 3.10, que também, não existem diferenças significativas, entre as cultivares Cobrançosa e Galega Vulgar, relativamente ao teor de polifenóis.

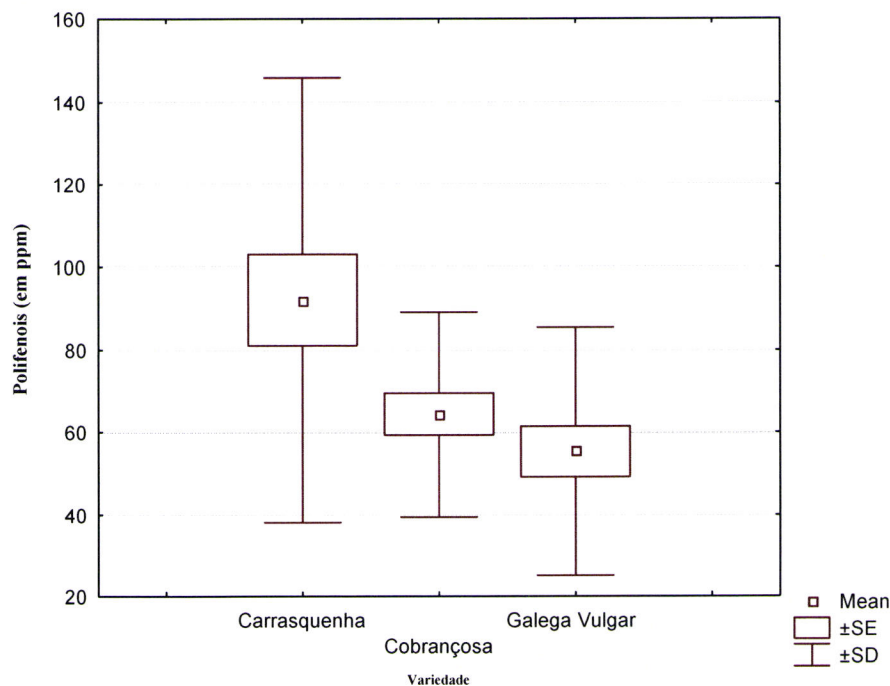


Figura 3.15

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para os polifenóis (em ppm), para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades (na quadro seguinte, podem observar-se os níveis de significância).
Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Quadro 3.10

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o teor de polifenóis, para as variedades Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

	p-level	Mean - Car	Mean - Cob	Std.Dev. - Car	Std.Dev. - Cob	Valid N - Car	Valid N - Cob
Polifenóis	p < .10	92,05025	64,35851	53,89052	24,85730	24	24
	p-level	Mean - Car	Mean - GV	Std.Dev. - Car	Std.Dev. - GV	Valid N - Car	Valid N - GV
Polifenóis	p < .10	92,05025	55,28193	53,89052	30,19463	24	24
	p-level	Mean - Cob	Mean - GV	Std.Dev. - Cob	Std.Dev. - GV	Valid N - Cob	Valid N - GV
Polifenóis	p > .10	64,35851	55,28193	24,85730	30,19463	24	24

Em que: Mean – Média; Std. Dev., – Desvio Padrão; Car – Carrasquenha; Cob – Cobrançosa; GV – Galega Vulgar

Sendo os polifenóis antioxidantes, contribuem fortemente para a resistência dos azeites à oxidação. Comparado o teor de polifenóis com a resistência oxidativa não se verificou existir uma correlação linear entre este dois parâmetros (figura 3.16).

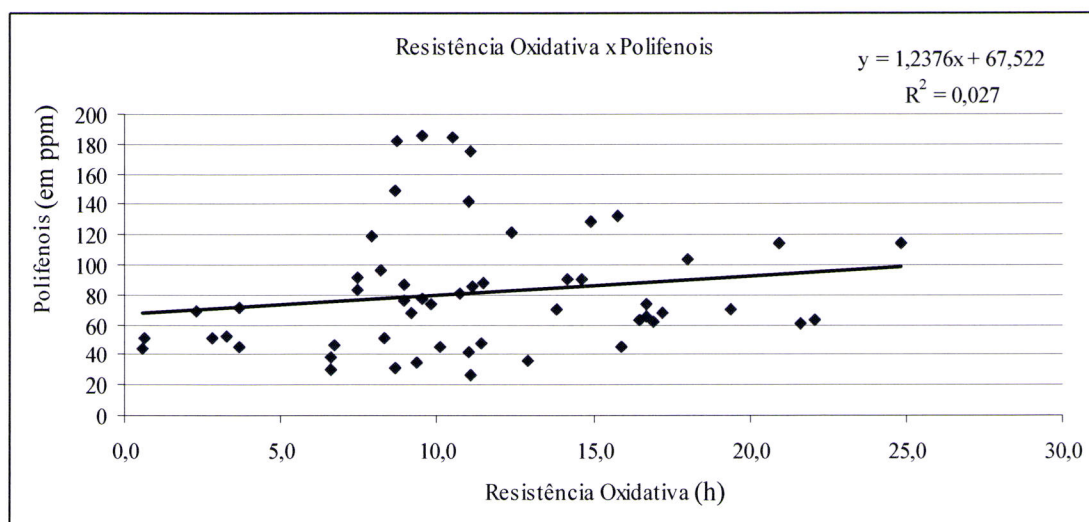


Figura 3.16
Análise Correlação entre o teor de polifenóis e a resistência oxidativa.

3.3.3.6. Tocoferóis

Os tocoferóis são antioxidantes, apresentando actividade vitamínica E (inibição da peroxidação lipídica) sendo a mais activa a forma α , daí a importância da sua quantificação pois torna-se numa mais valia para o azeite, tornando-o mais completo.

Considerando os valores obtidos para todas as variedades (anexo IX, quadro 6.25), verifica-se, recorrendo à análise não paramétrica Kruskal-Wallis ANOVA, que não existem diferenças significativas entre os métodos de extracção, quer para o alfa-tocoferol quer para o gama-tocoferol (figura 3.17 e 3.18).

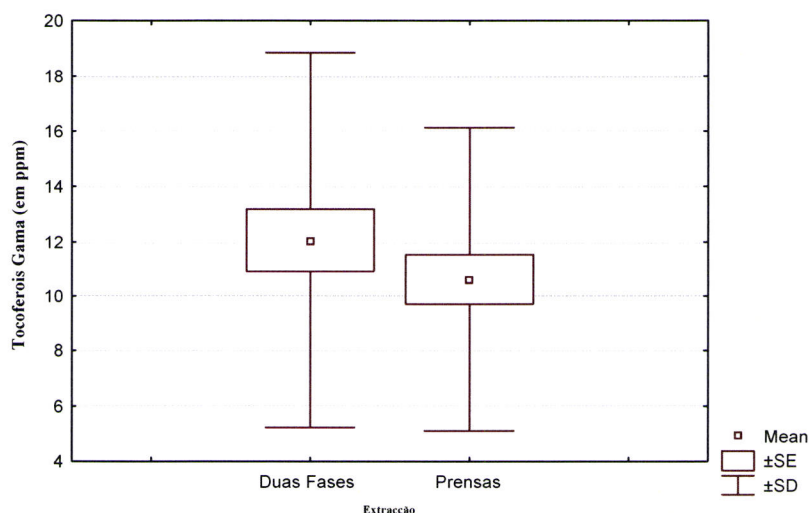
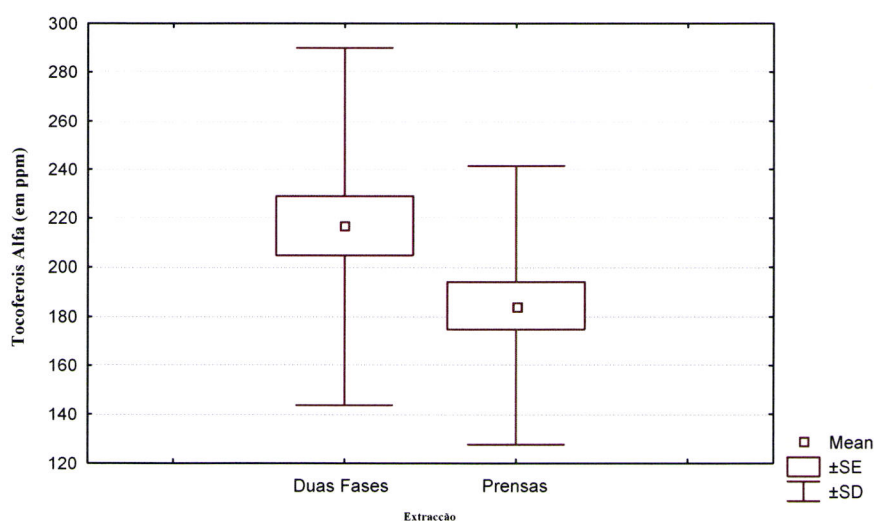


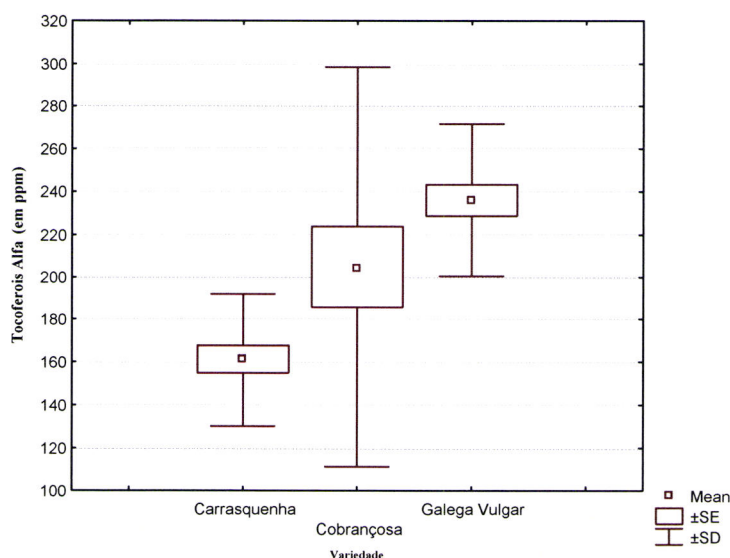
Figura 3.17
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Gama Tocoferol (em ppm), para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, o método de extracção. O teste Kruskal-Wallis : $H(1, N=72) = 0,8738091$ $p = 0,3499$.
Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 3.18**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Alfa Tocoferol (em ppm), para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, o método de extracção. O teste Kruskal-Wallis : $H(1, N=72) = 2,969178$ $p = 0,0849$

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Da comparação das três cultivares foi possível verificar (figuras 3.19 e 3.20 e nos quadros 3.11 e 3.12) que existem diferenças significativas, relativamente quer ao teor de alfa-tocoferol, quer ao teor de gama-tocoferol. Os teores mais altos foram obtidos para a cultivar galega vulgar.

**Figura 3.19**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Alfa Tocoferol (em ppm), para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades (no quadro seguinte, podem observar-se os níveis de significância).

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Quadro 3.11

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o teor de Alfa Tocoferol, para as variedades Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

	p-level	Mean - Car	Mean - Cob	Std.Dev. - Car	Std.Dev. - Cob	Valid N - Car	Valid N - Cob
Alfa Tocoferol	p < .025	161,2404	204,8564	30,83356	93,54904	24	24
	p-level	Mean - Car	Mean - GV	Std.Dev. - Car	Std.Dev. - GV	Valid N - Car	Valid N - GV
Alfa Tocoferol	p < .001	161,2404	236,0436	30,83356	35,48102	24	24
	p-level	Mean - Cob	Mean - GV	Std.Dev. - Cob	Std.Dev. - GV	Valid N - Cob	Valid N - GV
Alfa Tocoferol	p < .05	204,8564	236,0436	93,54904	35,48102	24	24

Em que: Mean – Média; Std. Dev. – Desvio Padrão; Car – Carrasquenha; Cob – Cobrançosa; GV – Galega Vulgar

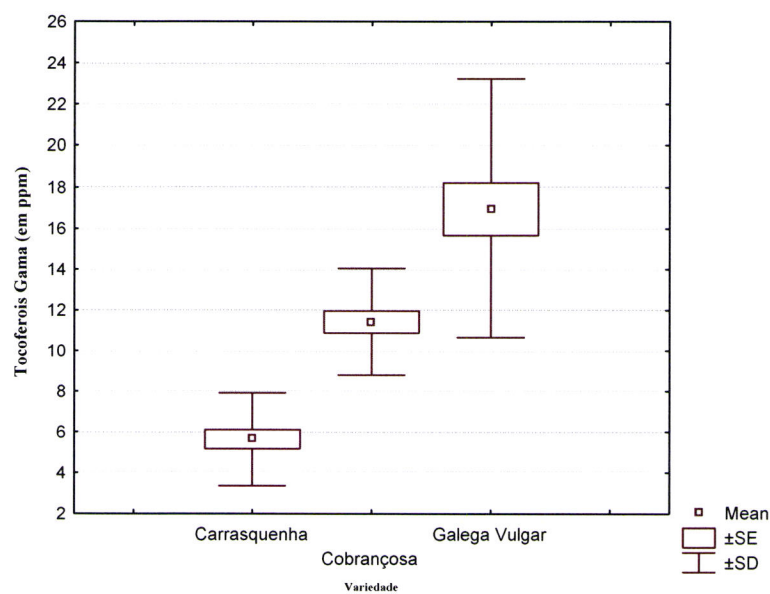


Figura 3.20

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Gama Tocoferol (em ppm), para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades (no quadro seguinte, podem observar-se os níveis de significância).

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Quadro 3.12

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o teor de Gama Tocoferol, para as variedades Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

	p-level	Mean - Car	Mean - Cob	Std.Dev. - Car	Std.Dev. - Cob	Valid N - Car	Valid N - Cob
Gama Tocoferol	p < .001	5,6472	11,4259	2,28366	2,63172	24	24
	p-level	Mean - Car	Mean - GV	Std.Dev. - Car	Std.Dev. - GV	Valid N - Car	Valid N - GV
Gama Tocoferol	p < .001	5,6472	16,9465	2,28366	6,27476	24	24
	p-level	Mean - Cob	Mean - GV	Std.Dev. - Cob	Std.Dev. - GV	Valid N - Cob	Valid N - GV
Gama Tocoferol	p < .025	11,4259	16,9465	2,63172	6,27476	24	24

Em que: Mean – Média; Std. Dev, – Desvio Padrão; Car – Carrasquenha; Cob – Cobrançosa; GV – Galega Vulgar

Também os tocoferóis desempenham um papel importante como antioxidantes sendo grande a sua estabilidade. Não se pode, contudo, dizer que haja uma correlação linear porque *R* é baixo, mas não deixa de ser uma correlação positiva com a resistência oxidativa, tal como seria de esperar, destacando também que a correlação é maior para alfa tocoferol do que para o gama tocoferol (figura 3.21).

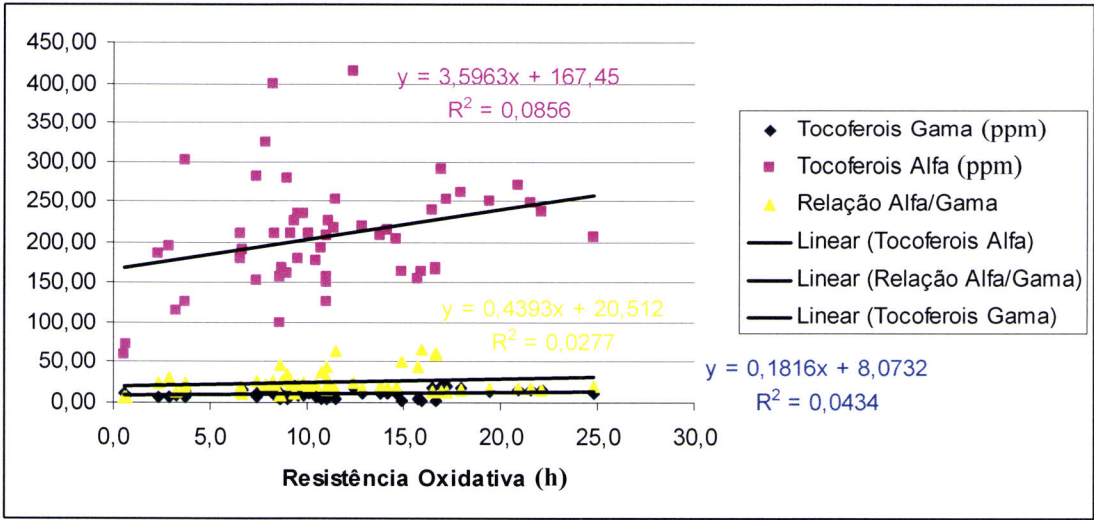
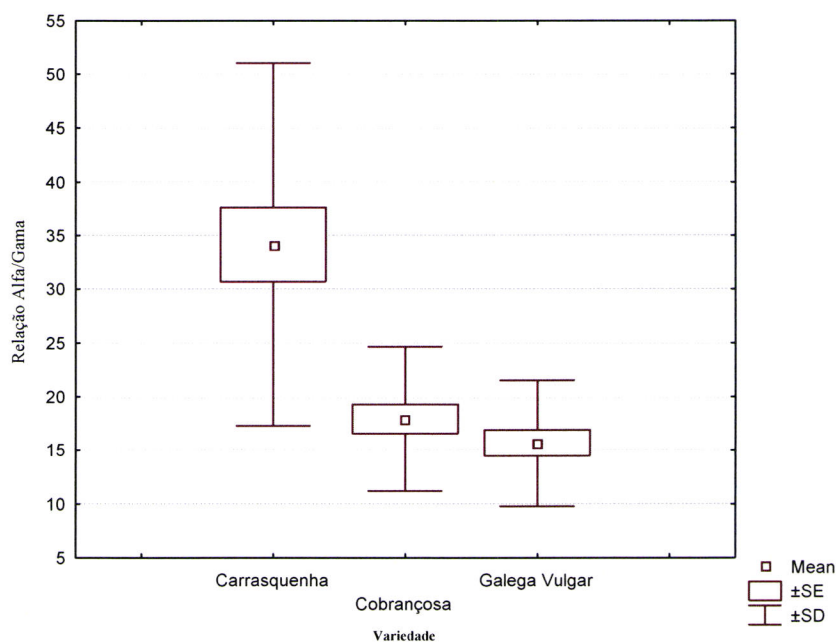


Figura 3.21

Relação entre o resistência à oxidação e Alfa Tocoferol, Gama Tocoferol e a quociente Alfa/Gama Tocoferol , para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar.

Foi possível também verificar que, para a relação Alfa/Gama Tocoferol, existem diferenças significativas entre a cultivar Carrasquenha e as outras duas cultivares objecto deste estudo (figura 3.22).

**Figura 3.22**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a relação Alfa/Gama Tocoferol, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

3.3.3.7. Ceras

As ceras encontram-se no azeite como produto de contaminação originário dos tegumentos das sementes e dos epicarpós dos frutos.

Considerando todas as variedades (anexo IX, quadro 6.16) e aplicando a estes dados a análise não paramétrica, Kruskal-Wallis ANOVA verifica-se não existirem diferenças significativas, entre os métodos de extracção, para todas as ceras analisadas e para o teor de ceras totais (figura 3.23 a 3.27).

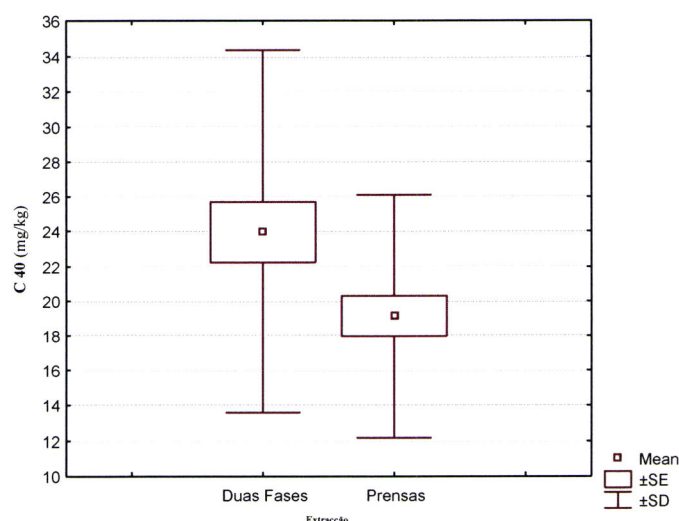


Figura 3.23

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C 40, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, o método de extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=72) = 3,537418$ $p = ,0600$
 Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

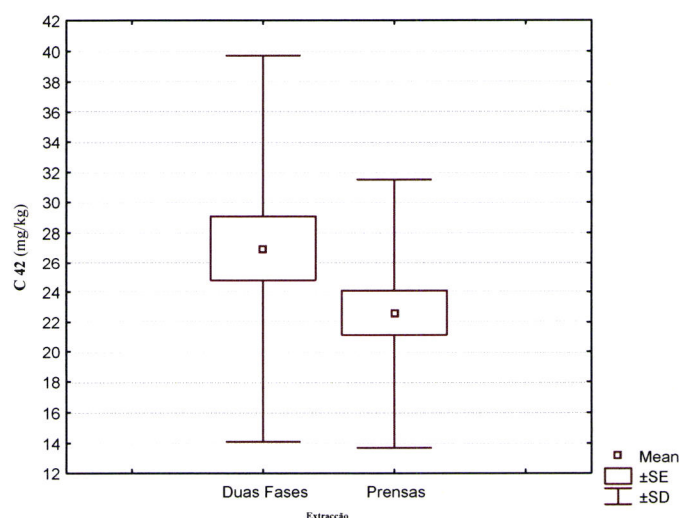
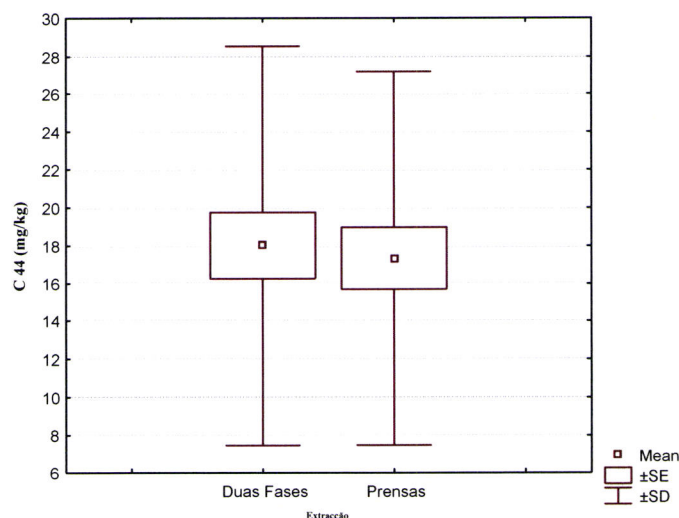


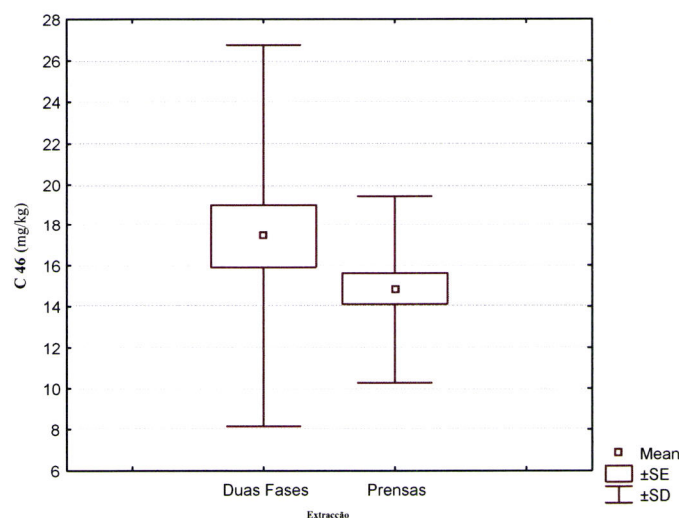
Figura 3.24

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C 42, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, o método de extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=72) = ,8321918$ $p = ,3616$
 Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 3.25**

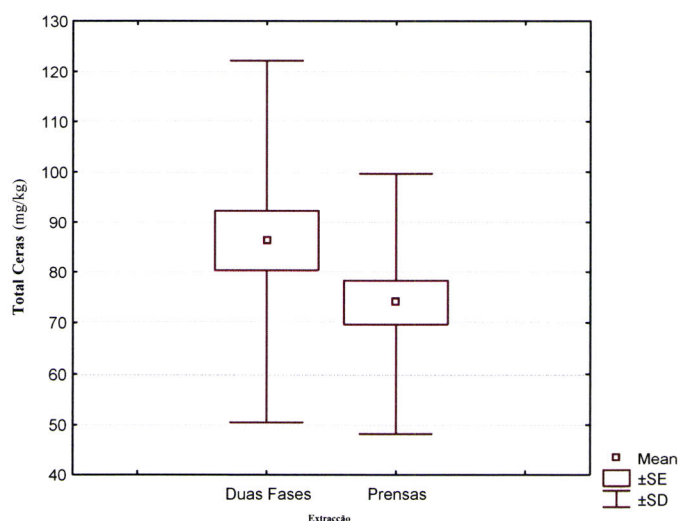
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C 44, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, o método de extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=72) = 1,139782$ $p = 0,7143$

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 3.26**

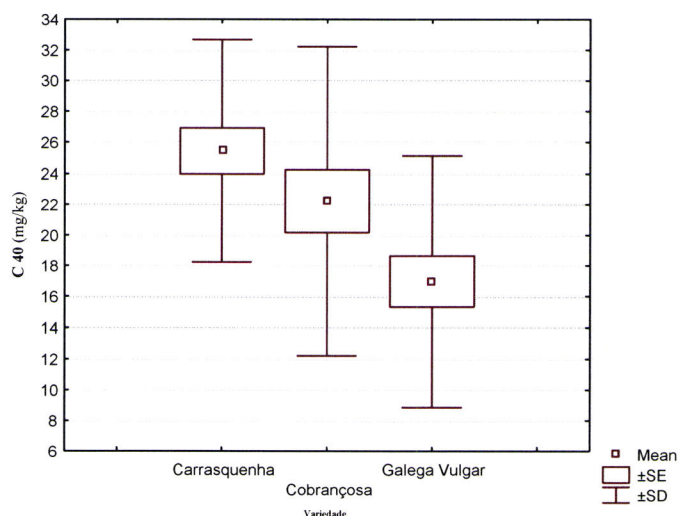
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C 46, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, o método de extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=72) = 1,243151$ $p = 0,2649$

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 3.27**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o Total de ceras, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, o método de extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=72)=1,619609$ $p=,2031$
Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Verifica-se igualmente que, para as ceras analisadas e as cultivares estudadas, apenas se verificaram diferenças significativas entre a cultivar Carrasquenha e a Galega Vulgar para a cera C 40; entre a cultivar Carrasquenha e Cobrançosa para a cera C46 (figuras 3.28 a 3.32 e quadro 3.13). O teor em ceras não parece estar relacionado, nem com a variedade, nem com a técnica de extracção.

**Figura 3.28**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C 40, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.
Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

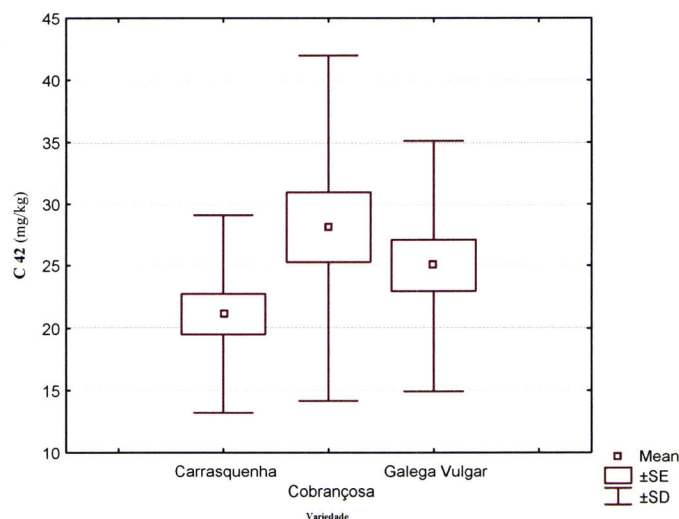


Figura 3.29

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C 42, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

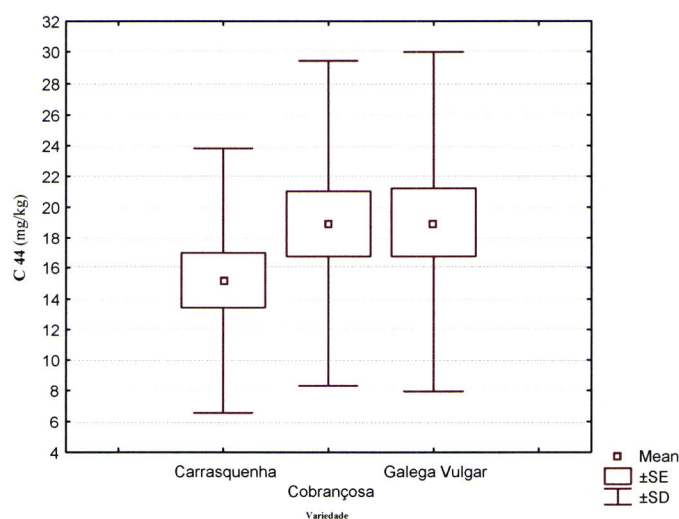


Figura 3.30

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C 44, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

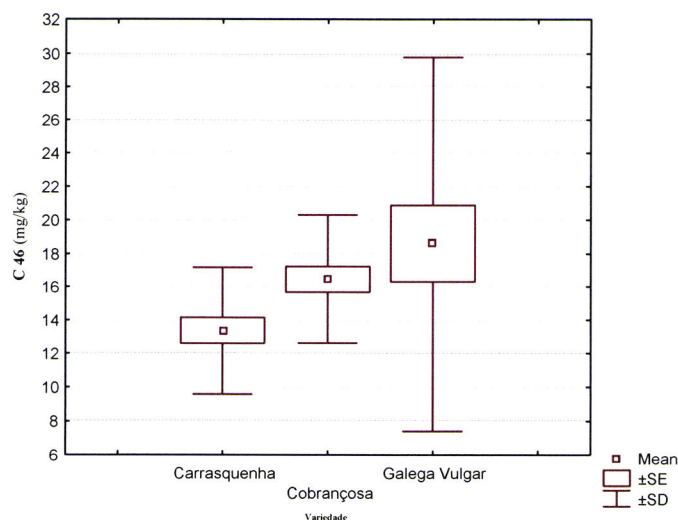


Figura 3.31

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C 46, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

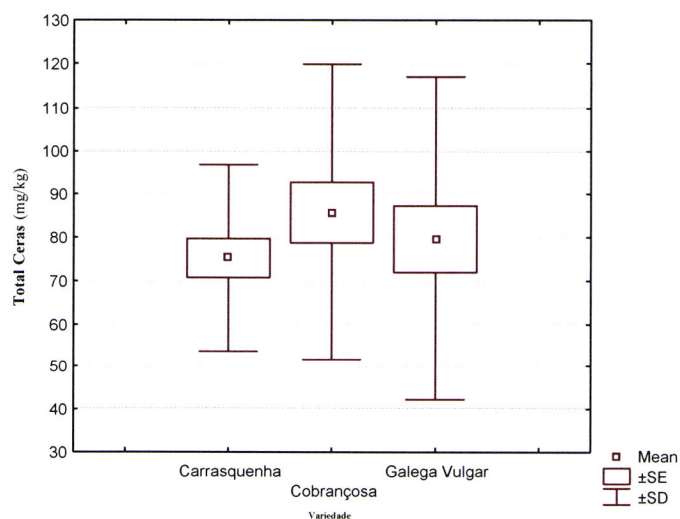


Figura 3.32

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o Total Ceras, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Quadro 3.13

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para os teores de Ceras, para as variedades Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

	p-level	Mean - Car	Mean - Cob	Std.Dev. - Car	Std.Dev. - Cob	Valid N - Car	Valid N - Cob
C 40	p > .10	25,46221	22,222765	7,2236177	9,9980759	24	24
C 42	p > .10	21,15834	28,117848	7,9421942	13,94171	24	24
C 44	p > .10	15,199126	18,872313	8,6218507	10,56471	24	24
C 46	p < .05	13,386832	16,473195	3,8050426	3,8417346	24	24
Total Ceras	p > .10	75,206924	85,687371	21,574254	34,124662	24	24
	p-level	Mean - Car	Mean - GV	Std.Dev. - Car	Std.Dev. - GV	Valid N - Car	Valid N - GV
C 40	p < .005	25,46221	17,008154	7,2236177	8,1155038	24	24
C 42	p > .10	21,15834	25,028073	7,9421942	10,101955	24	24
C 44	p > .10	15,199126	18,972387	8,6218507	11,020409	24	24
C 46	p > .10	13,386832	18,604628	3,8050426	11,181345	24	24
Total Ceras	p > .10	75,206924	79,611992	21,574254	37,35944	24	24
	p-level	Mean - Cob	Mean - GV	Std.Dev. - Cob	Std.Dev. - GV	Valid N - Cob	Valid N - GV
C 40	p > .10	22,222765	17,008154	9,9980759	8,1155038	24	24
C 42	p > .10	28,117848	25,028073	13,94171	10,101955	24	24
C 44	p > .10	18,872313	18,972387	10,56471	11,020409	24	24
C 46	p > .10	16,473195	18,604628	3,8417346	11,181345	24	24
Total Ceras	p > .10	85,687371	79,611992	34,124662	37,35944	24	24

Em que: Mean – Média; Std. Dev, – Desvio Padrão; Car – Carrasquenha; Cob – Cobrançosa; GV – Galega Vulgar

3.3.3.8. Álcoois Alifáticos

Verifica-se para todos azeites obtidos, teores de álcoois alifáticos (anexo IX, quadro 6.17) inferiores a 300mg/kg. Considerando estes parâmetros e aplicando uma análise não paramétrica Kruskal-Wallis ANOVA, em que a o método de extracção é a variável independente constata-se que não existem diferenças significativas entre os métodos de extracção (figura 3.33).

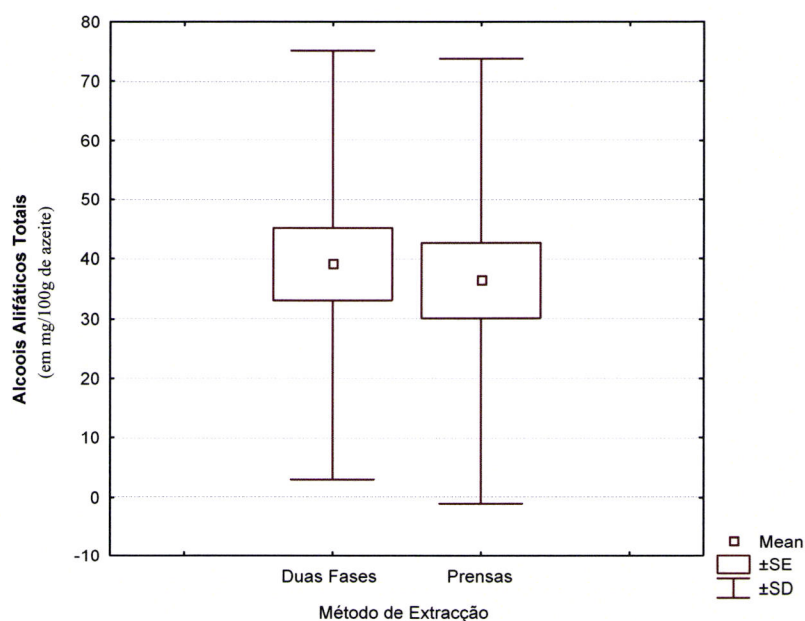


Figura 3.33

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o Total de Álcoois Alifáticos, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, o método de extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=72) = 2,2683917$ $p = 0,6044$
Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Quando são as variedades, as variáveis independentes, existem diferenças significativas entre a cultivar Carrasquenha e as cultivares Cobrançosa e Galega Vulgar, para o teor de álcoois alifáticos totais (figura 3.34 e quadro 3.14).

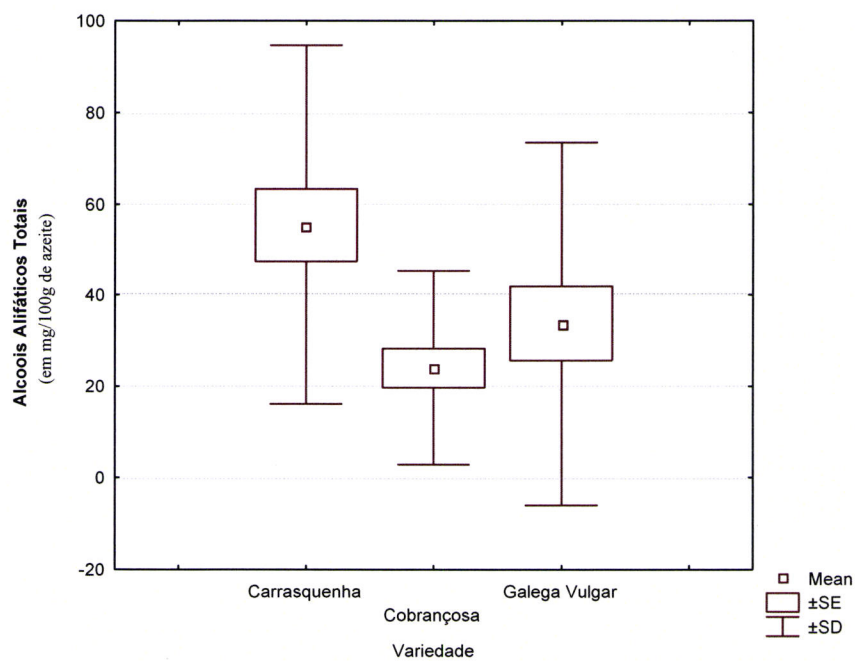


Figura 3.34

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o teor de álcoois alifáticos totais, para a variedade Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

Mean – Média; SE – Erro Padrão; SD – Desvio Padrão

Quadro 3.14

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para os teores de álcoois alifáticos, para as variedades Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, para a variável independente, as próprias variedades.

	p-level	Mean - Car	Mean - Cob	Std.Dev. – Car	Std.Dev. - Cob	Valid N - Car	Valid N - Cob
Docosanol	p < .005	38,163497	13,294415	32,750757	11,465738	24	24
Tricosanol	p < .10	2,3508986	1,2405725	1,7234629	1,3969178	24	24
Tetracosanol	p > .10	2,9343318	3,5926112	3,949305	5,4455726	24	24
Hexacosanol	p < .10	9,2866843	4,4588126	9,7226786	4,4838773	24	24
Heptacosanol	p < .10	0,8886225	0,509587	1,4567615	1,1778962	24	24
Octacosanol	p > .10	1,7357758	0,9449396	3,4284756	2,0805283	24	24
Alcoois Alifáticos Totais	p < .005	55,35981	24,040938	39,291787	21,262173	24	24
	p-level	Mean - Car	Mean - GV	Std.Dev. – Car	Std.Dev. - GV	Valid N - Car	Valid N - GV
Docosanol	p < .001	38,163497	11,616578	32,750757	8,9758951	24	24
Tricosanol	p < .005	2,3508986	1,3935587	1,7234629	2,4362896	24	24
Tetracosanol	p < .05	2,9343318	3,9558493	3,949305	5,6048376	24	24
Hexacosanol	p < .10	9,2866843	6,8779525	9,7226786	10,672341	24	24
Heptacosanol	p > .10	0,8886225	8,3542052	1,4567615	21,191663	24	24
Octacosanol	p > .10	1,7357758	1,5600648	3,4284756	3,851761	24	24
Alcoois Alifáticos Totais	p < .005	55,35981	33,758208	39,291787	39,750201	24	24
	p-level	Mean - Cob	Mean - GV	Std.Dev. – Cob	Std.Dev. - GV	Valid N - Cob	Valid N - GV
Docosanol	p > .10	13,294415	11,616578	11,465738	8,9758951	24	24
Tricosanol	p > .10	1,2405725	1,3935587	1,3969178	2,4362896	24	24
Tetracosanol	p > .10	3,5926112	3,9558493	5,4455726	5,6048376	24	24
Hexacosanol	p > .10	4,4588126	6,8779525	4,4838773	10,672341	24	24
Heptacosanol	p < .025	0,509587	8,3542052	1,1778962	21,191663	24	24
Octacosanol	p > .10	0,9449396	1,5600648	2,0805283	3,851761	24	24
Alcoois Alifáticos Totais	p > .10	24,040938	33,758208	21,262173	39,750201	24	24

Em que: Mean – Média; Std. Dev. – Desvio Padrão; Car – Carrasquenha; Cob – Cobrançosa; GV – Galega Vulgar

3.3.3. A análise sensorial versus a detecção electrónica de aromas

A análise sensorial é uma técnica que constitui uma etapa fundamental no processo de avaliação dos azeites.

Aplicando o Regulamento (CEE) N.º 2568/91 os resultados obtidos nas provas dos azeites, Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar, permitem que estes azeites sejam classificados de azeite lampante (inaceitável para o consumo humano) a azeite virgem extra (quadro 3.3 e anexo VII quadro 6.10).

Quando os resultados foram tratados estatisticamente (análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA), para cada uma das cultivares para ambos os métodos da extracção, verificaram-se diferenças significativas entre os azeites obtidos por centrifugação e por prensas (ver anexo VIII, figuras 6.12, 6.18 e 6.24), o que indica, claramente, o impacto do método de extracção na qualidade final do azeite (Aparício *et al.*, 1997; Ranalli *et al.*, 2000).

Foi possível discriminar os azeites obtidos pelos dois métodos de extracção recorrendo à análise sensorial.

Os dados obtidos recorrendo à detecção electrónica de aromas, “nariz electrónico”, foram submetidos a uma Estatística Multivariada, por análise de componentes principais (PCA- *Principal Component Analysis*), usando o software dedicado do instrumento do Alfa-Mos. Como em toda a análise usual de PCA o princípio básico é reescrever as variáveis originais em novas. Estas variáveis novas são traçadas no espaço bidimensional transformando as coordenadas originais (Ferreira *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2007). O índice da discriminação obtido dá uma clara indicação da separação observada entre grupos. Os índices negativos da discriminação revelam as amostras/grupos que se sobrepõem enquanto o índice de discriminação positivo dá uma separação desobstruída entre a amostra/grupos; quando o índice se encontra entre 80-100 considera-se que está obtida uma separação perfeita (Zhang *et al.*, 2007). A figura 3.35 mostra os resultados obtidos quando todos os sensores foram utilizados.

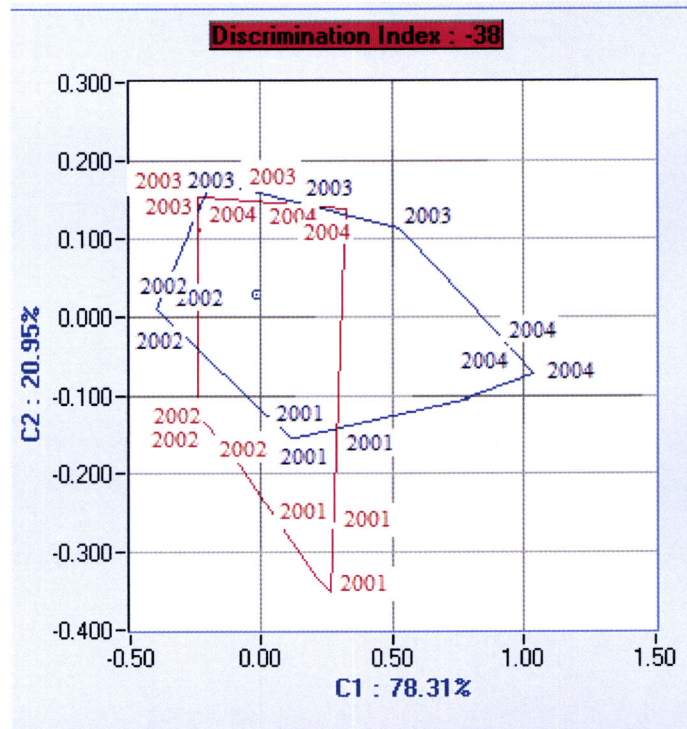
**Figura 3.35**

Gráfico da análise de componentes principais para a cultivar Galega Vulgar. Separação foi obtida utilizando todos os sensores disponíveis.

Em que: *Discrimination Index* - Índice de Discriminação; C1e C2 (Componente principal 1 e 2) e a Azul – Sistema de prensas; Vermelho - Centrífuga de duas fases.

Na figura 3.35, verifica-se que não foi possível qualquer tipo de separação, índice de discriminação negativo (-38). Com o intuito de potenciar a capacidade de diferenciação recorreu-se a uma opção do *software* que permite a optimização, seleccionando automaticamente os sensores mais adequados, com o intuito de melhorar a separação. Obtiveram-se os resultados da figura 3.36.

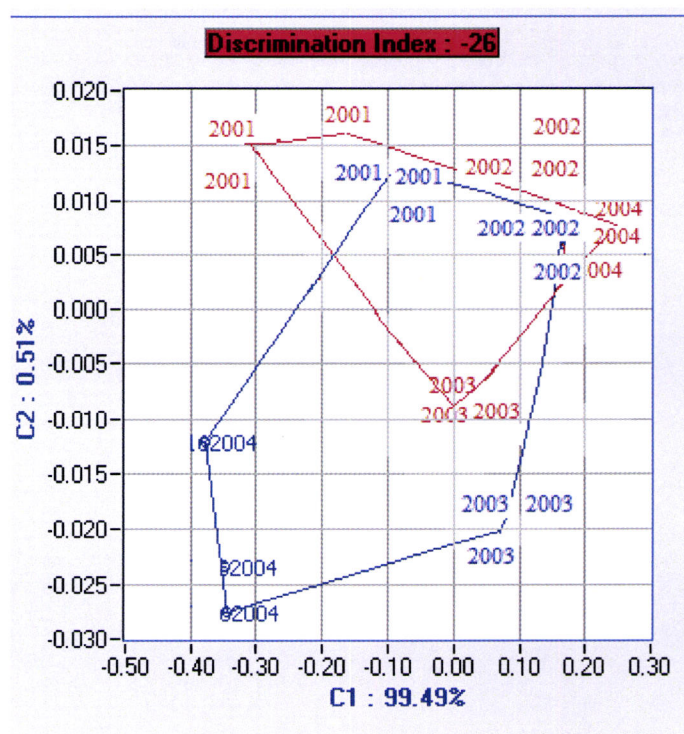


Figura 3.36

Gráfico da análise de PCA, para a variedade Galega Vulgar. Separação foi obtida com a tecnologia que permite a optimização da selecção dos sensores.

Em que: *Discrimination Index* - Índice de Discriminação; C1e C2 (Componente principal 1 e 2) e a Azul – Sistema de prensas; Vermelho - Centrífuga de duas fases.

Na figura 3.36 verifica-se que as duas primeiras componentes principais (C1 e C2) têm uma percentagem de 100% (99,49% C1 e 0,51% C2), contudo o índice de discriminação continua negativo (-26). Não se verifica uma separação entre os azeites obtidos pelos dois métodos de extração. Igualmente se verifica uma sobreposição das amostras/grupos.

O nariz electrónico tem sido considerado como podendo em alguns casos substituir análise sensorial com vista a distinguir azeites de diferentes classificações comerciais e origens (Stella *et al.*, 2000; Guadarrama *et al.*, 2001; Taurino *et al.*, 2002).

Comparando com a análise sensorial efectuada com a detecção electrónica de aromas, “nariz electrónico”, esta última mostrou-se menos eficiente para a diferenciação dos azeites obtidos pelos diferentes métodos de extração, ao contrário do que verificou Guadarrama *et al.*, (2001). O tipo de sensores utilizados poderá ser a causa mais directapor, eventualmente, não serem os determinantes para a diferenciação dos azeites (Guadarrama *et al.*, 2001). Por outro lado, a complexidade da amostra, tal como a baixa volatilidade e baixa concentração de compostos voláteis são, provavelmente, os factores com maior impacto para este resultado (Drake *et al.*, 2003).

3.3.4. Extracção de voláteis por SPME-GC-MS

3.3.4.1. Optimização do método de SPME

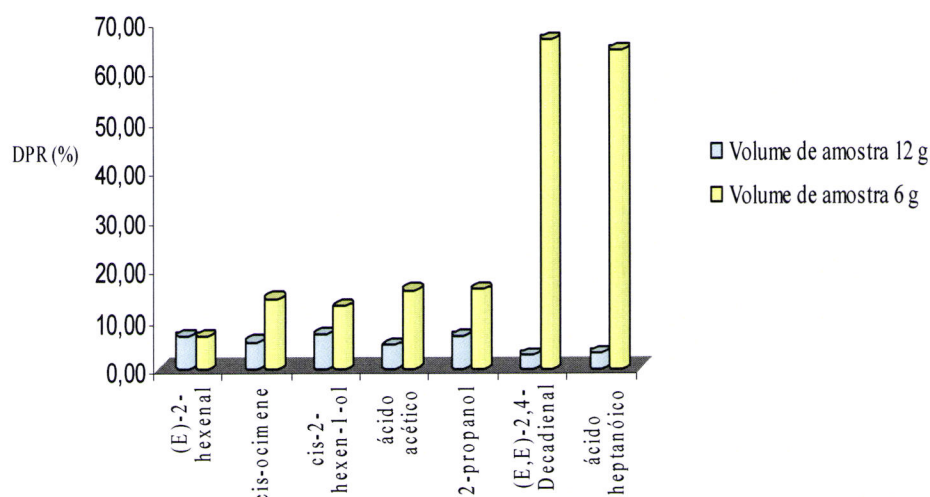
A utilização correcta do processo de extracção por microextracção em fase sólida (*Solid Phase Microextraction* -SPME), obriga a uma optimização cuidada do método (Pawliszyn *et al.*, 1989; De La Calle Garcia *et al.*, 1996; Vaz-Freire, 2003; Magalhães *et al.*, 2007) de modo a permitir a análise da fracção volátil do azeite.

A optimização efectuada recaiu sobre o volume de amostra, condições de homogeneização, natureza da fibra, temperatura de extracção e determinação da solução de Padrão interno (P.I.). Foram utilizadas as amostras de azeite provenientes das três cultivares, Carrasquenha Cobrançosa e Galega Vulgar.

A optimização dos volumes envolvidos em SPME, está directamente relacionada com o método a utilizar, *headspace* ou fibra imersa, depende também de factores, como a agitação e o próprio volume do frasco de amostra (habitualmente, de 2 a 40 mL), que muitas vezes são desprezados (Valente *et al.*, 2000; Komatsu *et al.*, 2004).

O volume da fase de vapor do sistema (*headspace*) deverá ser mantido entre os 30-50% do vial (Supelco, 2003). Uma excessiva diminuição no volume da matriz poderá afectar negativamente a termodinâmica de extracção, caso as concentrações do analito variem excessivamente na fase de vapor (*headspace*) e na matriz (Valente *et al.*, 2000).

Todos os ensaios foram efectuados com viais escuros de 20 mL. Foram ensaiadas duas quantidades diferentes de amostra 6 e 12 g (figura 3.37)

**Figura 3.37**

Valores de DPR (%) referentes à determinação do volume óptimo de matriz, referentes a alguns dos compostos extraídos por SPME, utilizando a fibra DVB/CAR/PDMS, para um tempo de extração de 30 min e aquecimento a 40°C.

A homogeneização foi assegurada, recorrendo à utilização de um agitador magnético a uma velocidade de 1000 rpm, ou seja, a máxima possível sem que haja formação de vórtice (acautelando o risco de a fibra ficar imersa ou entrar em contacto com a matriz).

A agitação é importante para reduzir o tempo de equilíbrio melhorando assim a exactidão e precisão do processo. A agitação foi mantida constante para todas as extracções. Neste caso, em que a extracção é em *headspace*, a agitação é habitualmente utilizada para diminuir o tempo de extracção, uma vez que aumenta a difusão dos compostos voláteis (Valente *et al.*, 2000; Supelco, 2003).

A colocação da amostra em banho termostizado permitiu potenciar a libertação dos compostos voláteis à semelhança do testado para o nariz electrónico.

O revestimento da fibra é determinante para a eficiência da extracção em termos qualitativos e quantitativos (Vaz-Freire *et al.*, 2001; Ribeiro *et al.*, 2008; Supelco, 2003). Testaram-se duas fibras: poliacrilato (PA) de 85 µm de espessura de filme e a divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) de 30-50 µm de espessura de filme e 2cm de comprimento. A fibra de poliacrilato (PA), com uma espessura de filme de 85 µm, é geralmente aconselhada para a extracção de compostos

orgânicos polares de média-alta polaridade, por absorção, com algum sucesso na extracção de compostos voláteis (Vaz-Freire *et al.*, 2001); a fibra Divinilbenzeno/Carboxen/Polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS), com 30-50 μm de espessura de filme, é uma fibra bipolar, de adsorção, aconselhada para compostos voláteis (Supelco, 2003).

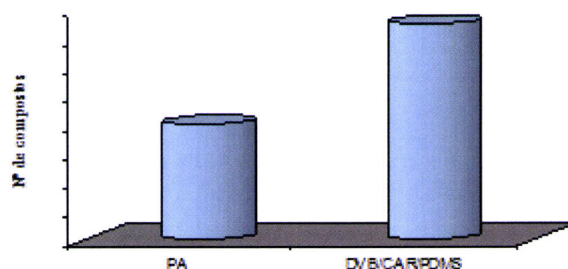


Figura 3.38

Número de compostos extraídos por cada uma das fibras em avaliação: PA e DVB/CAR/PDMS, pelo método SPME.

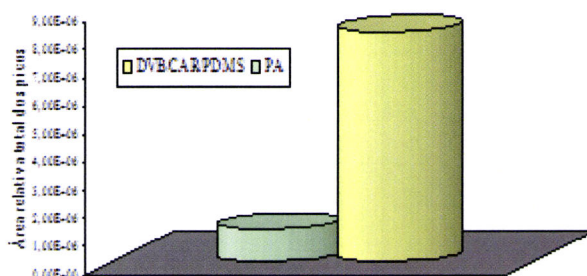


Figura 3.39

Quantidade, em termos de área total dos sinais cromatográficos dos compostos extraídos pela fibra PA e DVB/CAR/PDMS, pelo método SPME; (A) e área relativa dos compostos comuns extraídos pelas duas fibras (B).

Os resultados obtidos representados nas figuras 3.38 e 3.39, indicam claramente a vantagem da fibra DVB/CAR/PDMS na extracção desta matriz.

Ao nível da escolha do composto para padrão interno optou-se por utilizar o 4-metil-2-pentanol. O pentano foi o solvente que se mostrou mais adequado, com manutenção das áreas dos picos sem interferir com a eluição dos componentes da amostra (Magalhães *et al.*, 2007).

3.3.4.2. Separação e identificação dos compostos do aroma das amostras em estudo

A coluna capilar utilizada foi uma Rtx-WAX, com 60m de comprimento, 0,32 mm de D.I. e 0,5 µm de espessura de filme (Restek, Bellefonte, Pennsylvania), esta opção deve –se ao facto de este tipo de coluna ser a mais adequada para a separação de compostos voláteis apesar de colunas apolares do tipo DB-5 permitir obter índices de retenção mais constantes (Kovats, 1958; Goodner, 2008). Por outro lado a coluna de apolar do tipo DB-5 pode reter alguns compostos por estar activa, nomeadamente álcoois, ácidos e aldeídos, para compostos que se encontram em pequenas quantidades (Ribeiro *et al.*, 2008).

A maioria dos compostos isolados e caracterizados neste trabalho, pelo método SPME-GC-MS, são referidos na literatura (Wilkes *et al.*, 2000; Vichi *et al.*, 2003; Morales *et al.*, 1994; Morales *et al.*, 1995; Reiners *et al.*, 1998; Cavalli *et al.*, 2003, Ribeiro *et al.*, 2008) como constituintes do aroma do azeite (ver anexo XI quadro 6.22).

A identificação dos compostos foi feita a partir da comparação dos respectivos espectros de massa, dos tempos de eluição relativa e da utilização de padrões.

A figura 3.40 apresenta o traçado da corrente iónica total, típico de uma amostra de azeite. A identificação dos compostos do aroma do azeite detectados nesta amostra, é apresentado no quadro 3.15. No quadro 6.23 do anexo XI, estão ainda descritas as notas olfactivas de cada composto.

A análise dos cromatogramas permitiu verificar que grande parte dos compostos do aroma estão presentes em todas as amostras com diferentes características analíticas, o que seria previsível pois a sua proveniência pode dever-se a mecanismos de biossíntese comuns devido à presença de enzimas comuns (Angerosa *et al.*, 1999). Refere-se como exemplo aldeídos e álcoois C5 e C6, formados essencialmente pela “via da lipoxigenase”: Hexanal (composto 3, quadro 3.15), Z-3-Hexenal (composto 7, quadro 3.15), E-2-Hexenal (composto 12, quadro 3.15), Z-3-Hexenol (composto 23, quadro 3.15) e E-2-Hexenol (composto 24, quadro 3.15).

Quadro 3.15

Análise geral dos compostos do aroma do azeite, identificados nas amostras de azeite em estudo, com os índices de retenção confirmados em fontes bibliográficas

Nº	Composto	Índices de Retenção*
1	Hexano	[600-725]
2	Tolueno	[952-1042]
3	Hexanal	[1000-1084]
4	ni	
5	<i>E</i> -2-Pental - <i>nit</i>	[1060-1131]
6	1-Penten-3-ol	[1107-1157]
7	<i>Z</i> -3-Hexenal	[1146-1156]
8	Heptanal	[1126-1186]
9	β -pineno - <i>nit</i>	
10	<i>O</i> -xileno	[1128-1191]
11	ni	
12	Hexen-2-al (<i>isómero</i>)	[1160-1220]
13	2-pentil-furano – <i>nit</i>	
14	ni	
15	1-Pentanol	[1131-1255]
16	Ocimeno (<i>isómero</i>)	[1186-1250]
17	(<i>E,E</i>)-2,4-octadienal – <i>nit</i>	
18	2-octanona – <i>nit</i>	
19	Octanal - <i>nit</i>	
20	<i>E</i> -2-pentenol - <i>nit</i>	
21	<i>E</i> -4-Heptenal - <i>nit</i>	
22	6-Metil-hept-5-en-2-ona - <i>nit</i>	
23	<i>Z</i> -2-Hexenol - <i>nit</i>	[1228]
23 a	ni	
24	<i>E</i> -3-Hexenol	[1320-1386]
25	<i>Z</i> -3-Hexenol	[1322-1385]
26	<i>E</i> -2-Octenal	[1231-1288]
27	Ácido acético	[1408-1450]
28	2,4-Heptadienal	[1453-1487]
29	α -cubebeno	[1442-1488]
29 a	ni	
30	Nonanal	[1385-1397]
31	Ácido propanóico	[1495-1527]
32	ni	
33	ni	
34	Ácido butanóico	[1588-1634]
35	Ácido pentanóico	[1700-1746]
36	ni	
36 a	ni	
37	(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	[1710-1780]
38	Ácido hexanóico - <i>nit</i>	
39	Ácido heptanóico	[1900-1962]
40	<i>E</i> -Hexen-2-óico – <i>nit</i>	
41	Ácido octanóico	[2047-2069]
42	Ácido nonanóico	[2140-2198]

* Os índices de retenção calculados encontram-se dentro dos intervalos obtidos em diversas referências (Wilkes *et al.*, 2000; Vichi *et al.*, 2003; Morales *et al.*, 1994; Morales *et al.*, 1995; Flavornet 2007; Reiners *et al.*, 1998; Ribeiro *et al.*, 2008; Goodner, 2008); *ni* – Não identificado; *nit* – Não identificado, tendo por base os critérios definidos, logo a necessitar de uma confirmação posterior.

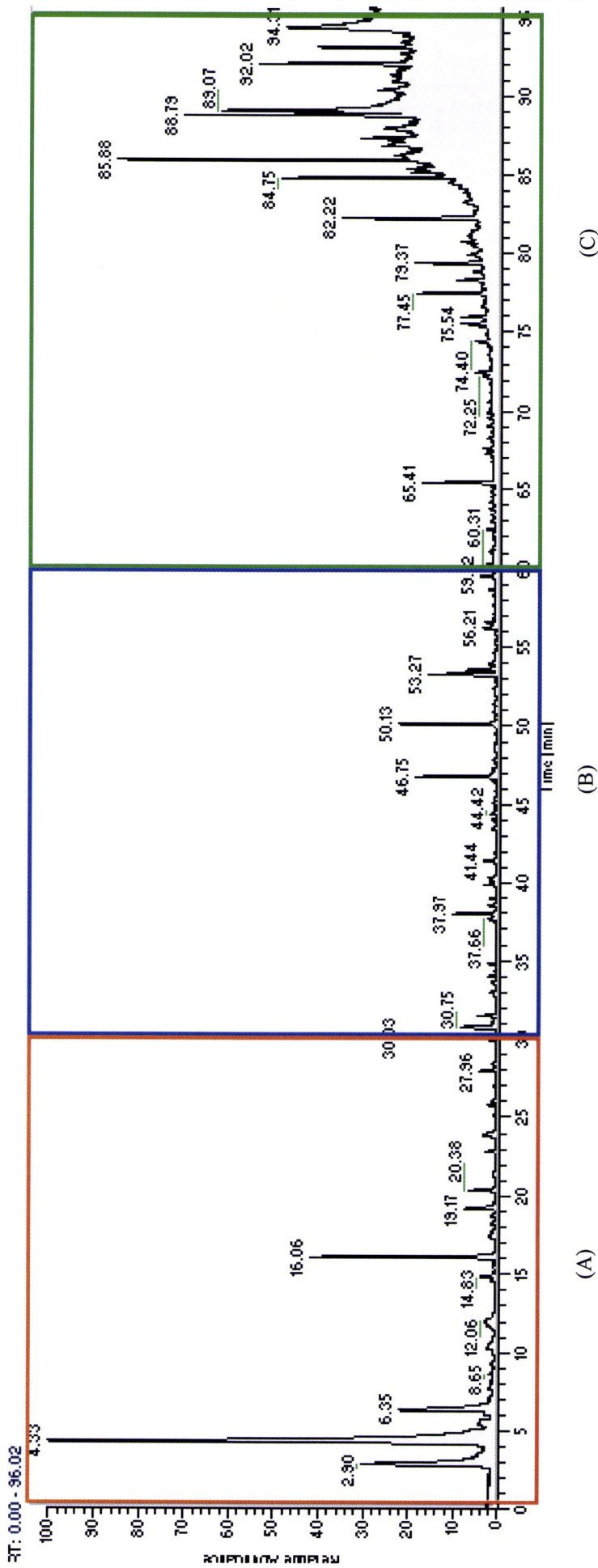


Figura 3.40

Tracado de corrente iónica total de uma das amostras, obtida por SPME com uma fibra DVB/CAR/PDMS, (A) Compostos identificados no intervalo de tempo de 0-30 minutos, (B) Compostos identificados no intervalo de tempo de 30-60 minutos, (C) Compostos identificados no intervalo de tempo de 60-90 minutos. (s = siloxanos ou sangramento da coluna). P.I - 4- Metil-2 Pentanol.

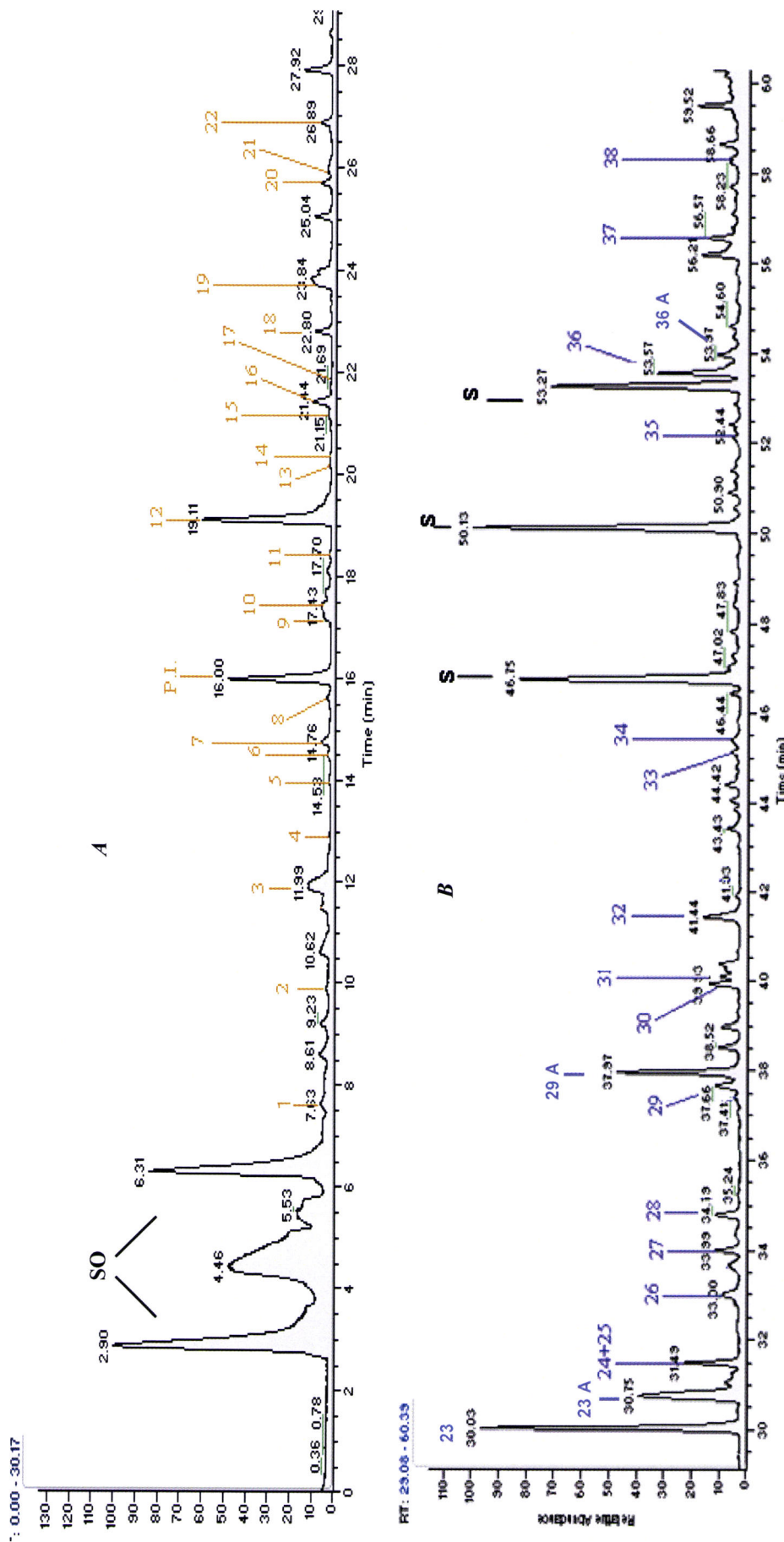


Figura 3.40 (pormenor - continuação)

Tracado de corrente iónica total de uma das amostras, obtida por SPME com uma fibra DVB/CAR/PDMS, (A) Compostos identificados no intervalo de tempo de 0-30 minutos, (B) Compostos identificados no intervalo de tempo de 30-60 minutos, (C) Compostos identificados no intervalo de tempo de 60-90 minutos. (so – solventes; s – siloxanos ou sangramento da coluna). P.I - 4- Metil-2 Pentanol.

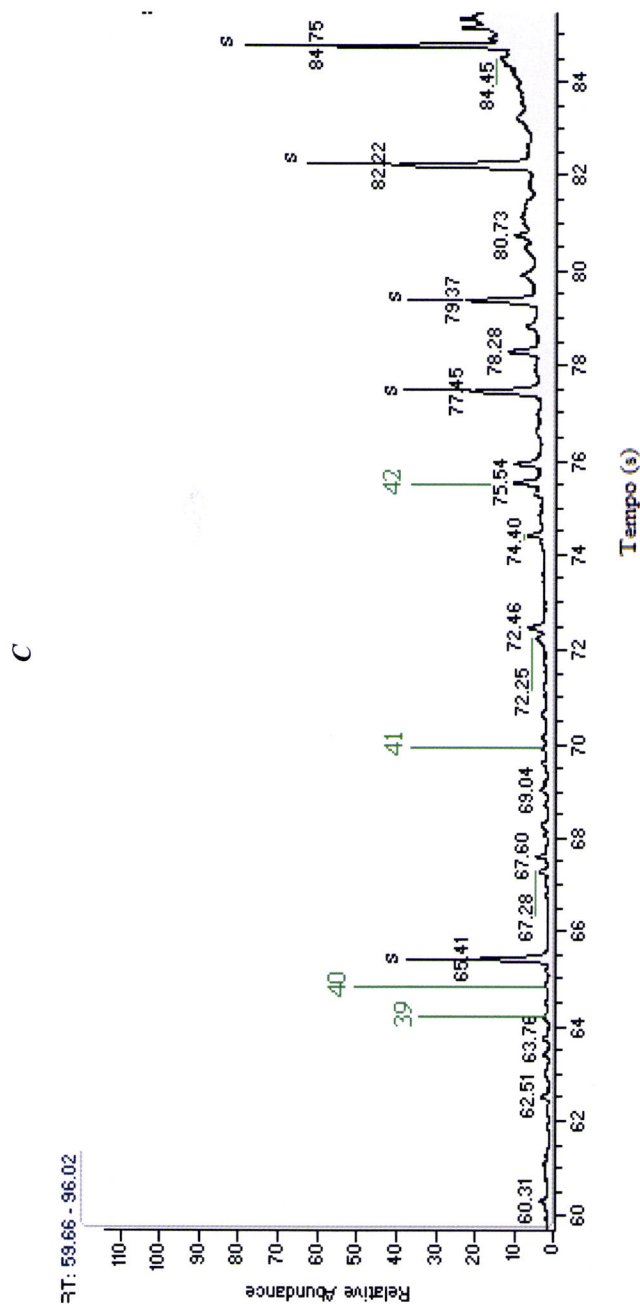


Figura 3.40 (pormenor - conclusão)

Tracado de corrente iónica total de uma das amostras, obtida por SPME com uma fibra DVB/CAR/PDMS, (A) Compostos identificados no intervalo de tempo de 0-30 minutos, (B) Compostos identificados no o intervalo de tempo de 30-60 minutos, (C) Compostos identificados no intervalo de tempo de 60-90 minuto. (s = síloxanos ou sangramento da coluna), P.I - 4- Metil-2 Pentanol.

Nas figuras seguintes (figura 3.41 a 3.43) temos um exemplo de cromatogramas, corrente iónica total, para todas as variedades e métodos de extracção.

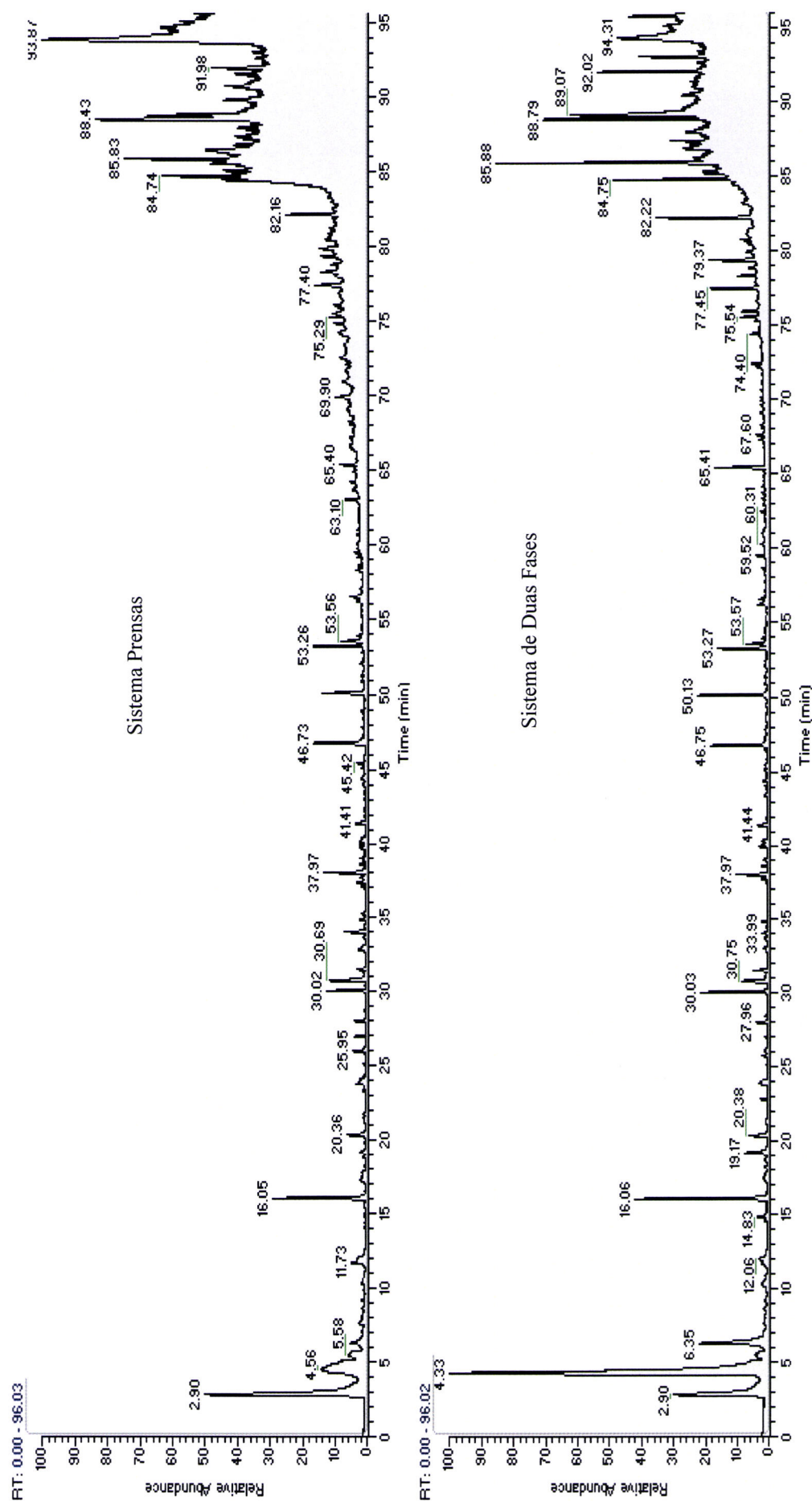


Figura 3.41
Traçado iônico total respectivo à variedade Carrasquenha, para os dois sistemas de extração.

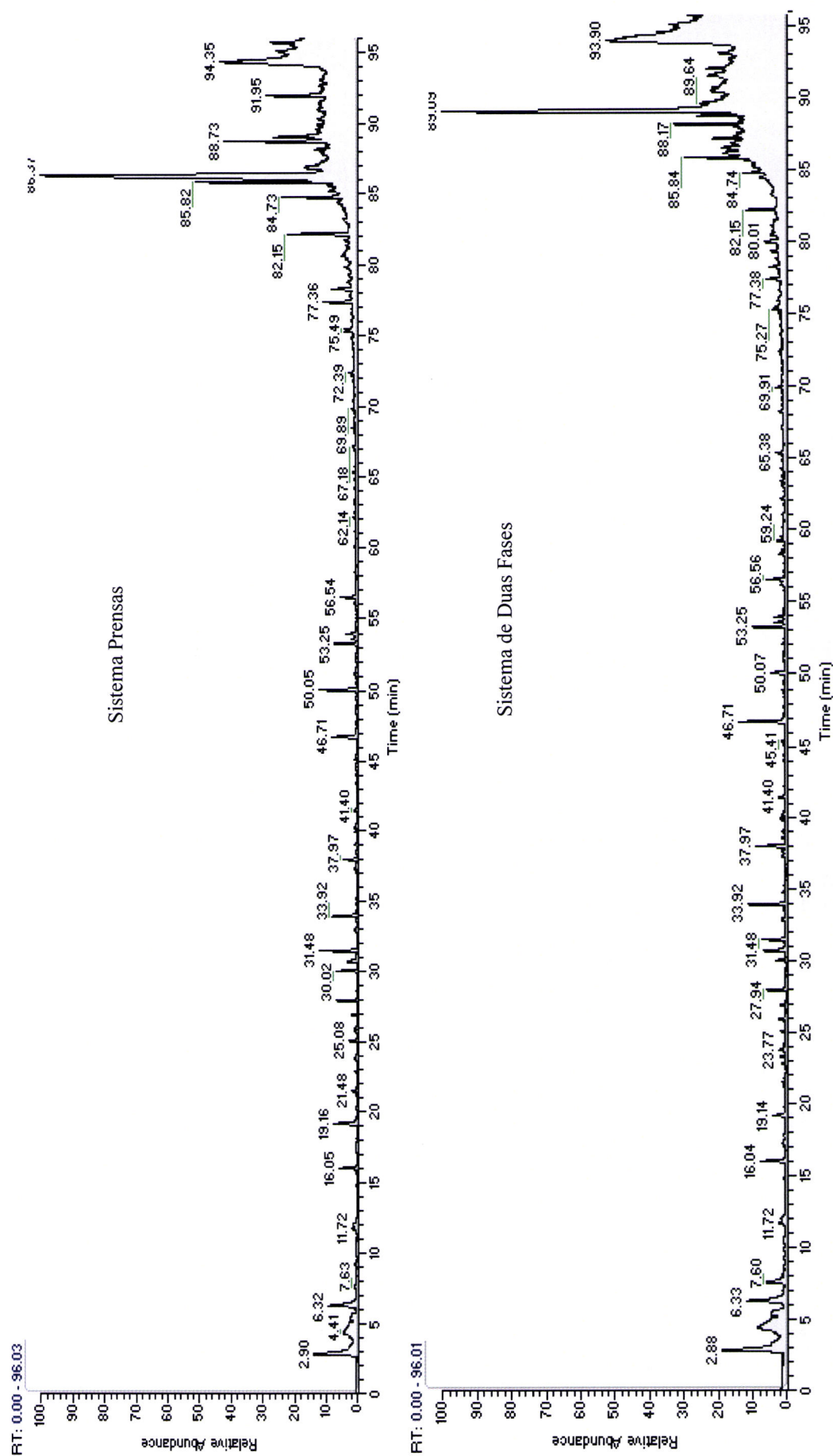


Figura 3.42
Traçado iónico total respectivo à variedade Cobraçosa, para os dois sistemas de extracção.

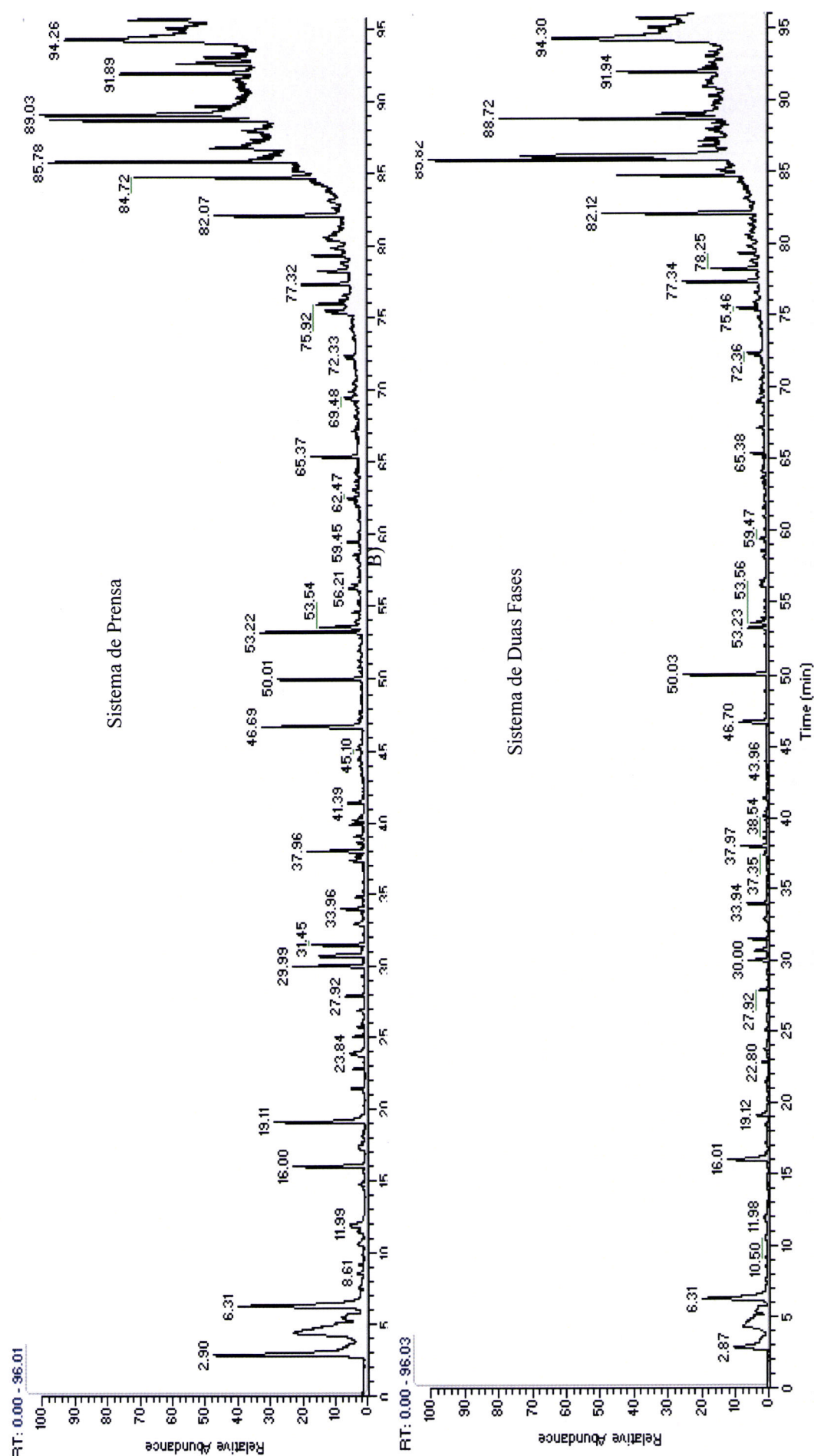


Figura 3.43

Tracado iónico total respectivo à variedade Galega Vulgar, para os dois sistemas de extração.

Alguns dos compostos analisados são provenientes de fenómenos de oxidação, nomeadamente de reacções enzimáticas sequenciais da “via da lipoxigenase” (ex. hexanal, *Z*-3-hexenal, *Z*-3-nonenal, *Z,Z*-3,6-nonadienal, etc). O perfil qualitativo e quantitativo destes compostos está directamente relacionado com a actividade e com os níveis de enzimas envolvidos neste mecanismo. Alguns estudos já mencionaram que o conteúdo enzimático varia com a variedade, pelo que o estudo destes compostos voláteis gerados pela oxidação enzimática dos ácidos gordos permite uma diferenciação varietal (Angerosa *et al.*, 1999).

Para todos os cromatogramas resultantes da análise por GC-MS as amostras de azeite Galega Vulgar surgem dominados por um pico intenso de hexen-2-al (composto 12 do quadro 3.15), e outros compostos com 6 átomos de carbono como o *Z*-2-hexenol (composto 23 do quadro 3.15), *E*-3-hexenol (composto 24 do quadro 3.15), *Z*-3-hexenol (composto 25 do quadro 3.15) que têm origem pela “via da lipoxigenase”, com descrições olfactivas “verde”, “doce”, “intenso” e “fresco”. É de realçar, que tal se verifica para os dois sistemas de extracção objecto do estudo.

O aroma do azeite Galega Vulgar surge, assim, caracterizado por um número muito reduzido de compostos, que se destacam dos restantes hexen-2-al (composto 12 do quadro 3.15), *Z*-2-hexenol (composto 23 do quadro 3.15), *Z*-3-hexenol (composto 25 do quadro 3.15). Tal facto pode elucidar os adjectivos como “suave”, “ténue”, “delicado” e “subtil” que têm sido frequentemente utilizados pelos provadores para descrever o aroma da variedade Galega.

Os azeites obtidos a partir da variedade Carrasquenha são caracterizados por elevadas concentrações de aldeídos, a maioria produzidos a partir da auto-oxidação de ácidos gordos insaturados e também concentrações altas de ácidos carboxílicos e álcoois. Os traçados de corrente iónica total das amostras Cobrançosa e Carrasquenha apresentam-se mais homogéneos na distribuição dos vários compostos que as caracterizam, principalmente a nível quantitativo, tal com se pode verificar nas figuras 3.41 a 3.43.

3.3.4.3. Análise Estatística

Com o intuito de validar estatisticamente as diferenças encontradas, às médias das áreas relativas dos vários compostos identificados na análise por GC-MS (anexo XII, quadro 6.22) dos compostos extraídos por SPME aplicou-se ANOVA (anexo XII, quadro 6.23). Verificou-se existirem diferenças significativas na variação das médias ($p \leq 0,05$, diferenças significativas) relativamente aos dois métodos de extracção, para um número considerável de compostos (anexo XII, quadro 6.23).

Os resultados da análise de variância vêm validar a impressão visual/gráfica dos resultados obtidos (figuras 4.44 a 4.49):

- Para a cultivar Carrasquenha verificámos que:
- Método de Prensa: Nas amostras de azeites obtidos a partir da cultivar Carrasquenha, sistema de extracção por Prensas (figura 3.44), observa-se a presença de inúmeros ácidos carboxílicos em concentrações significativamente superiores às do sistema de Duas Fases (figura 3.45). Voláteis como o ácido acético (composto 27 do quadro 3.15) e restantes ácidos bem como a presença do hexanal (composto 3 do quadro 3.15) foram identificados em elevadas concentrações relativas parecendo contribuir para o perfil final deste azeite com notas aromáticas de “Avinhado-avinagrado” (Morales *et al.*, 2000; Morales *et al.*, 2005). A presença de 6-metil-5-hepten-2-ona (composto 22 do quadro 3.15) poderá ser explicada pela acção de enzimas de fungos na “via da lipoxigenase”, contribuindo com notas sensoriais negativas.

A baixa concentração em *E*-2-hexenal (composto 22, quadro 3.15) em contraste com a alta concentração em hexanal (composto 3, quadro 3.15) é visível em perfis com notas de “Mofo” e “Ranço” (Morales *et al.*, 1997; Morales *et al.*, 2005). Esta particularidade poderá dificultar a percepção das notas olfactivas reais destes azeites.

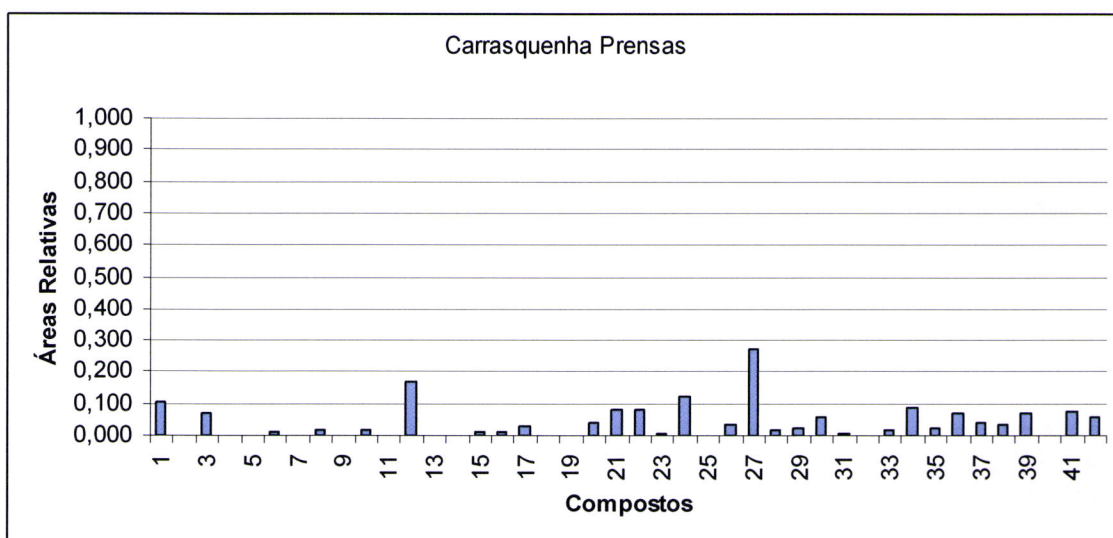


Figura 3.44

Áreas relativas dos compostos identificados (quadro 3.15), pela análise SPME-GC-MS, correspondentes às amostras da cv Carrasquenha provenientes do método de Prensas.

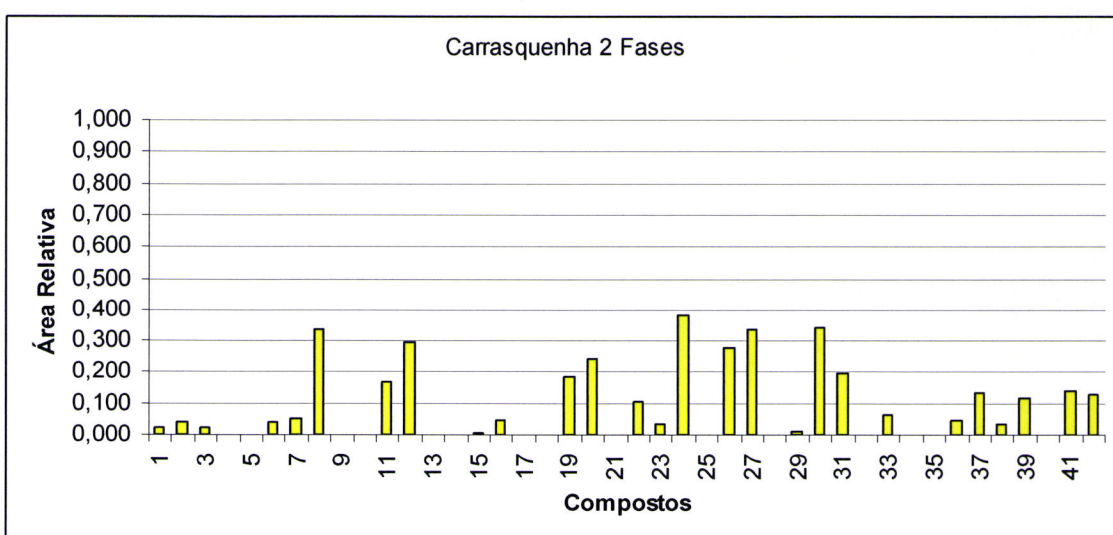


Figura 3.45

Áreas relativas dos compostos identificados (quadro 3.15), pela análise SPME-GC-MS, correspondentes às amostras da cv Carrasquenha provenientes do método de Duas Fases.

- Método Duas Fases (figura 3.45): Observou-se a presença de diversos aldeídos saturados como o hexanal (composto 3 do quadro 3.15), heptanal (composto 8 do quadro 3.15) e octanal (composto 19 do quadro 3.15) e aldeídos insaturados como o 2-octenal (composto 26 do quadro 3.15) e nonenal (composto 30 do quadro 3.15) (figura 3.41), característicos do aroma a “Ranço” (Morales *et al.*, 1997; Morales *et al.*, 2005) e com grande influência no perfil final devido aos baixos valores de limiar de percepção olfativo destes compostos (Morales *et al.*, 1997). Os ácidos hexanoico, heptanoico e

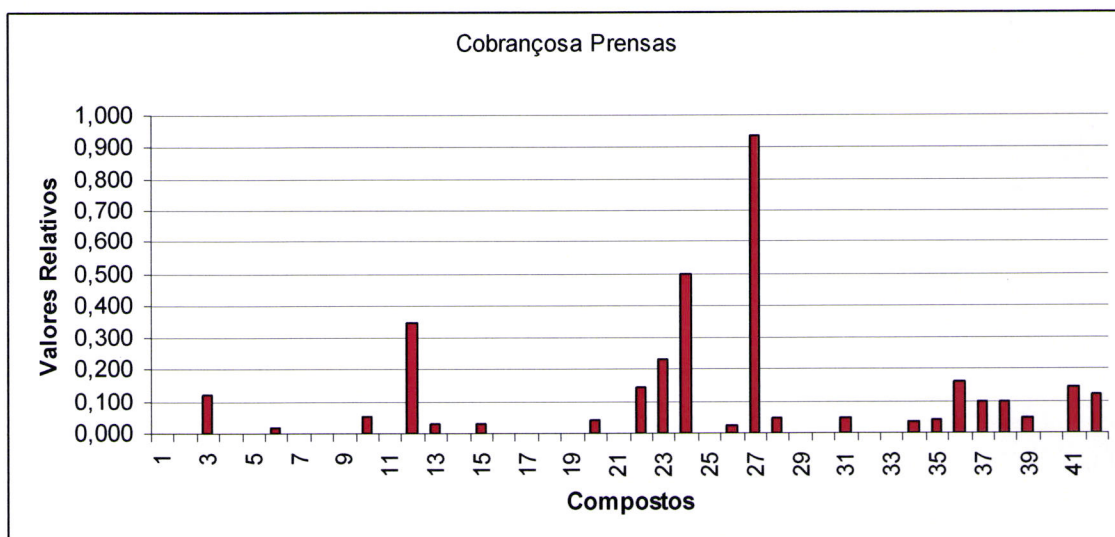
acético (compostos 38, 39 e 27 respectivamente do quadro 3.13) também são contribuintes deste perfil aromático (Morales *et al.*, 2005).

A concentração significativa de compostos com notas positivas de “Frutado” e “Amargo” deve-se à presença de compostos com 6 átomos de carbono como *E*-2-hexenal (composto 22 do quadro 3.15), *Z*-3-hexenal (composto 7 do quadro 3.15) e *Z*-2-hexenol (composto 23 do quadro 3.15) (Angerosa *et al.*, 1999; Angerosa *et al.*, 2000; Angerosa *et al.*, 2004)

Para a cultivar Cobrançosa verificámos que:

- Método de Prensa: Estes azeites são caracterizados por níveis quantitativos altamente significativos de ácidos carboxílicos (composto 27, 38, 39, 41 e 42 do quadro 3.15) (figura 3.46) responsáveis por notas sensoriais negativas de “Avinhado-avinagrado”.

O hexenal (composto 3 do quadro 3.15), também detectado de forma significativa nestas amostras, é um aldeído em C6 e é um dos primeiros compostos provenientes da “via da lipoxigenase” responsável pelo odor a vegetais e frutos verdes no azeite (Angerosa *et al.*, 1999; Angerosa *et al.*, 2000; Angerosa *et al.*, 2004). Este composto volátil para além de resultar da oxidação enzimática do ácido linolénico também provém da foto-oxidação responsável pelo defeito “Ranço” no azeite (Morales *et al.*, 1997). Enquanto que para alguns autores este composto foi associado a notas olfactivas “desagradáveis” (Morales *et al.*, 1997), para outros (Aparício *et al.*, 1997) foi referido como responsável pelos atributos “Verde” e “Frutado” contribuindo positivamente para o aroma do azeite quando não em excesso (Morales *et al.*, 1997).

**Figura 3.46**

Áreas relativas dos compostos identificados (quadro 3.15), pela análise SPME-GC-MS, correspondentes às amostras da cv Cobrançosa provenientes do método de Prensa.

Para além destes compostos, ainda foram detectados aldeídos como 2,4-decadial (composto 36 do quadro 3.15) e 2-octenal (composto 26 do quadro 3.15) descrito com notas a “fruta”, “gordura” e “picante” e cetonas como 6-metil-5-hepten-2-ona. Estes compostos são determinantes para o perfil aromático final com defeito “Avinhado-avinagrado” (Morales *et al.*, 2000; Morales *et al.*, 2005). Hidrocarbonetos como *o*-xileno (composto 10 do quadro 3.15) e pineno (composto 9 do quadro 3.15) contribuem com notas sensoriais negativas. A presença destes compostos no azeite ainda é um pouco controversa, podendo dever-se a contaminações ou mecanismos exógenos (Ribeiro *et al.*, 2008).

O composto 2-pentil-furano (composto 13 do quadro 3.15) com notas olfactivas a “manteiga” e “feijão verde” foi apenas detectado, nestas amostras. Este já foi referenciado por outros autores como contribuindo para o aroma a “Mofo” estando relacionado com níveis elevados de oxidação (Morales *et al.*, 2005)

- Métodos Duas Fases: Nestas extracções por SPME, verifica-se a presença no *headspace* (fase de vapor) de compostos com 6 átomos de carbono e notas sensoriais positivas com diferenças altamente significantes em relação aos azeites obtidos pelo método tradicional. A presença de hexen-2-al (composto 12 do quadro 3.15) (“Frutado”) (Morales *et al.*, 2000; Morales *et al.*, 2005) e hexanal (composto 3 da

quadro 3.15) poderá indicar que estamos na presença de um azeite virgem extra (Angerosa *et al.*, 1999; Morales *et al.*, 2005; Angerosa *et al.*, 2004). Outro composto em C6, o Z-3-Hexenol (composto 25 do quadro 3.15), presente significativamente nestas amostras, contribui para o perfil final de aroma “Amargo” (Angerosa *et al.*, 1999; Morales *et al.*, 2005; Angerosa *et al.*, 2004).

Os compostos 1-penten-3-ol (composto 6 do quadro 3.15), ácido acético (composto 27 do quadro 3.15), ácido butanoico, propanoico, pentanoico, hexanoico e octanoico (compostos 31, 34, 35, 39 e 41 do quadro 3.15), bem como a presença de octanal (composto 19 do quadro 3.15) e 2,4-heptadienal (composto 28 do quadro 3.15) permitem definir o perfil aromático final destes azeites (figura 3.47). Sinal de intensa oxidação, estes compostos possuem notas sensoriais negativas indicadoras de cheiro a “Ranço” (Morales *et al.*, 1997; Morales *et al.*, 2005).

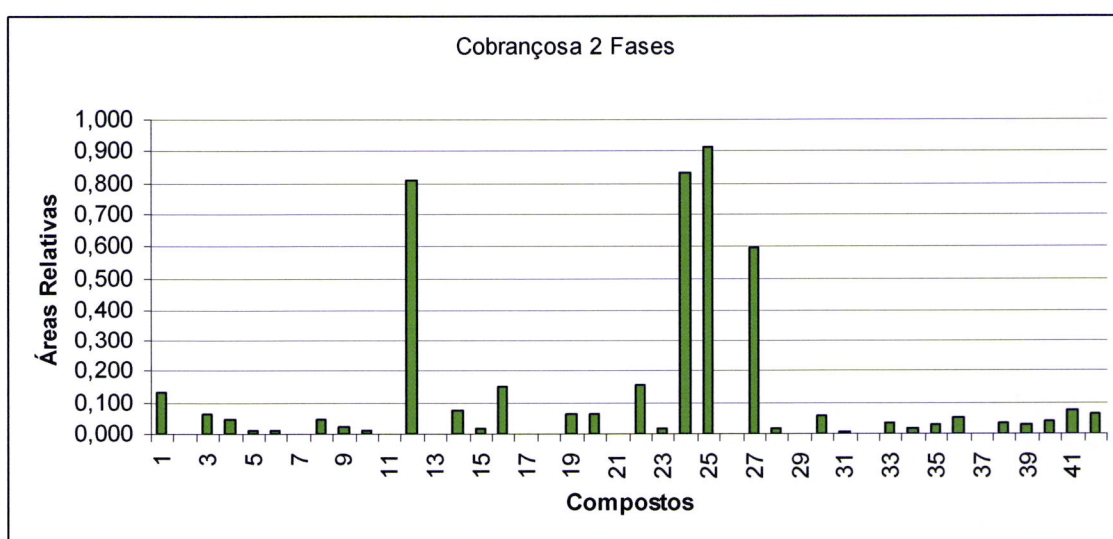


Figura 3.47

Áreas relativas dos compostos identificados (quadro 3.15), pela análise SPME-GC-MS, correspondentes às amostras da cv Cobrançosa provenientes do método de Duas Fases.

Para a cultivar Galega Vulgar verificámos que:

- Método de Prensa: Estes azeites são caracterizados pela presença de diversos aldeídos como hexen-2-al (composto 12 do quadro 3.15), com notas olfativas “verde”, “gordura”, e “doce”, 2,4-heptadienal (composto 28 do quadro 3.15) descrito como “pepino”, “erva”, “gordura” e “ranço” e 2,4-decadienal (composto 36 do quadro 3.15).

O composto volátil com maior destaque é o ácido acético (composto 27 do quadro 3.15) (ver figura 3.48) com notas sensoriais de “pungente”, “amargo”, “intenso” e “avinagrado” característico do perfil aromático de um azeite com atributo “Avinhado-avinagrado” (Morales *et al.*, 2000; Morales *et al.*, 2005). A presença deste composto pode advir da presença de acetobactérias que transformam o etanol, obtido anteriormente a partir de mecanismos de fermentação, em ácido acético (Morales *et al.*, 2000; Morales *et al.*, 2005). Elevados níveis deste ácido conjugado com quantidades baixas de compostos com 6 átomos de carbono, como hexen-2-al (composto 12 do quadro 3.13) (em comparação com a extração 2 fases) e outros compostos provenientes da “via da lipoxigenase”, são responsáveis pela característica sensorial “Avinhado-avinagrado”.

Também foram identificados outros ácidos carboxílicos como o ácido pentanoico, hexanoico, heptanoico e octanoico (compostos 35, 38, 39 e 41 da quadro 3.15). Todos eles podendo ser relacionados com o defeito sensorial “Avinhado-avinagrado” (Morales *et al.*, 2000; Morales *et al.*, 2005). Outros compostos detectados e com contribuição para este perfil aromático final foram o 1-penten-3-ol (composto 6 do quadro 3.15) e 2-octanona (composto 18 do quadro 3.15) (Morales *et al.*, 2000; Morales *et al.*, 2005).

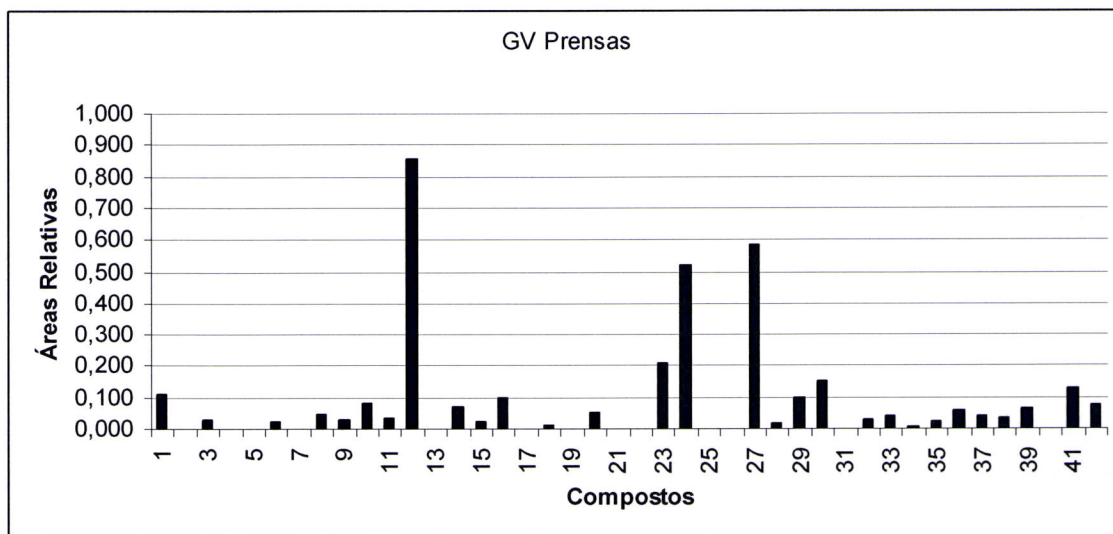


Figura 3.48

Áreas relativas dos compostos identificados (quadro 3.15), pela análise SPME-GC-MS, correspondentes às amostras da cv Galega vulgar provenientes do método de Prensa.

Em relação aos demais voláteis, foram identificados álcoois em C6 como o Z-2-hexenol (composto 23 do quadro 3.15) com notas sensoriais positivas de “verde”, “fresco”, “erva” e “pungente” e E-3-hexenol (composto 24 do quadro 3.15) com notas olfactivas “intenso”, “verde”, “frutado” e “avinhado”. Estes compostos desencadeiam sensações olfactivas que contribuem para o atributo positivo “Amargo”.

- Método de Duas Fases: verifica-se que os compostos do aroma mais significativos destes azeites (figura 3.49) são o hexen-2-al (composto 12 do quadro 3.15), que domina este perfil, Z-ocimeno (composto 16 do quadro 3.15), E-3-Hexenol (composto 24 do quadro 3.15), Z-3-Hexenol (composto 25 do quadro 3.15), α -cubebeno (composto 29 do quadro 3.15).

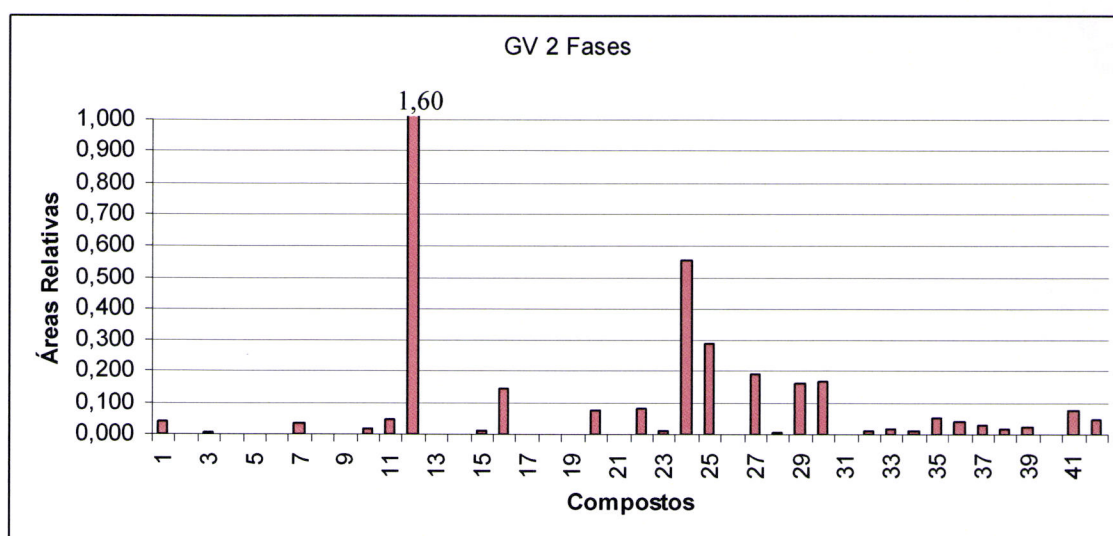


Figura 3.49

Áreas relativas dos compostos identificados (quadro 3.15), pela análise SPME-GC-MS, correspondentes às amostras da cv Galega vulgar provenientes do método de Duas Fases.

Nestes azeites foi detectado o volátil octanal (composto 19 do quadro 3.15) que resulta de reacções de oxidação do ácido oleico contribuindo para a determinação do perfil sensorial de azeites com notas sensoriais características de “Ranço” (Morales *et al.*, 1997; Morales *et al.*, 2005). O heptanal (composto 8 do quadro 3.15) descrito como “gorduroso” e “oleoso” e a cetona 6-metil-5-hepten-2-ona com notas descritivas de “erva”, “verde”, “gordura” e “pungente” contribuem também para o perfil aromático

destes azeites (Morales *et al.*, 1997; Morales *et al.*, 2005). O heptanal é produzido em processos de oxidação dos hidroperóxidos da “via da lipoxigenase” e parece ter grande influência no perfil aromático final “Ranço” de um azeite por apresentar valores baixos de limiar de percepção olfactiva (Morales *et al.*, 1997).

Foram identificados alguns hidrocarbonetos como o α -cubebeno (composto 29 do quadro 3.15), já referenciado por outros autores (Ribeiro *et al.*, 2008) em amostras com atributo “Amargo” e o *o*-ocimeno descrito como “citrino”, “verde” e “floral”. O Z-3-hexanal (composto 3 do quadro 3.15) também é característico de azeites com características “Amargo”.

A alta concentração de *E*-2-hexenal em contraste com a baixa concentração em *E*-3-hexenol parece estar associada a azeites virgem extra (Morales *et al.*, 2005) com aroma “Frutado”.

É de salientar que existem diferenças significativas na variação das médias de *E*-2-Hexenal entre os dois métodos de extracção, podendo indicar um conjunto maior de reacções de oxidação no método de extracção por Prensa.

3.3.4.3.1. Análise por Componentes Principais

Recorreu-se a análise por Componente Principal (PCA) para verificar se a variabilidade (quantidade/áreas relativas dos picos) dos 42 compostos considerados permite distinguir os azeites em estudo visto. Na realidade, apesar da maioria estar presente em todas as amostras, a quantidade em que cada composto está presente é crucial para a caracterização do aroma de determinado azeite, o qual é resultante, sempre, das sinergias entre os vários compostos presentes.

Os dados experimentais foram convertidos num formato compatível com o programa informático utilizado (*Statistica, Inc. Version 6*) sobre o qual foi aplicado a Análise Factorial, para reduzir o número de variáveis sem perda significativa de informação. Os resultados da análise foram colocados na forma gráfica para facilitar a visualização do impacto de cada variável na discriminação das amostras.

Na quadro 3.16 estão representados os valores próprios e as variâncias explicadas.

Quadro 3.16

Valores próprios e variância explicada das primeiras três componentes principais extraídas quando se consideram os 42 compostos identificados em todas as amostras.

Componente Principal	Valor Próprio	Valor Próprio Acumulado	Variância total (%)	Variância total Acumulada (%)
1	11,6500	11,6500	64,7221	64,7221
2	3,3535	15,0035	18,6305	83,3525
3	1,1780	16,1814	6,5443	89,8968

Uma simples observação permite constatar a boa separação conseguida apenas com as duas primeiras componentes principais, indicando que estas componentes retêm a informação mais representativa. Por outro lado, o valor próprio da 3ª componente é muito inferior aos das primeiras, pelo que não se considerou necessário efectuar a sua projecção.

A figura 3.50 ilustra a projecção bidimensional das amostras na primeira e segunda componentes. Estas componentes constituem as novas variáveis que resumem a informação contida nas variáveis originais, revelando algumas características dos dados como se pode observar.

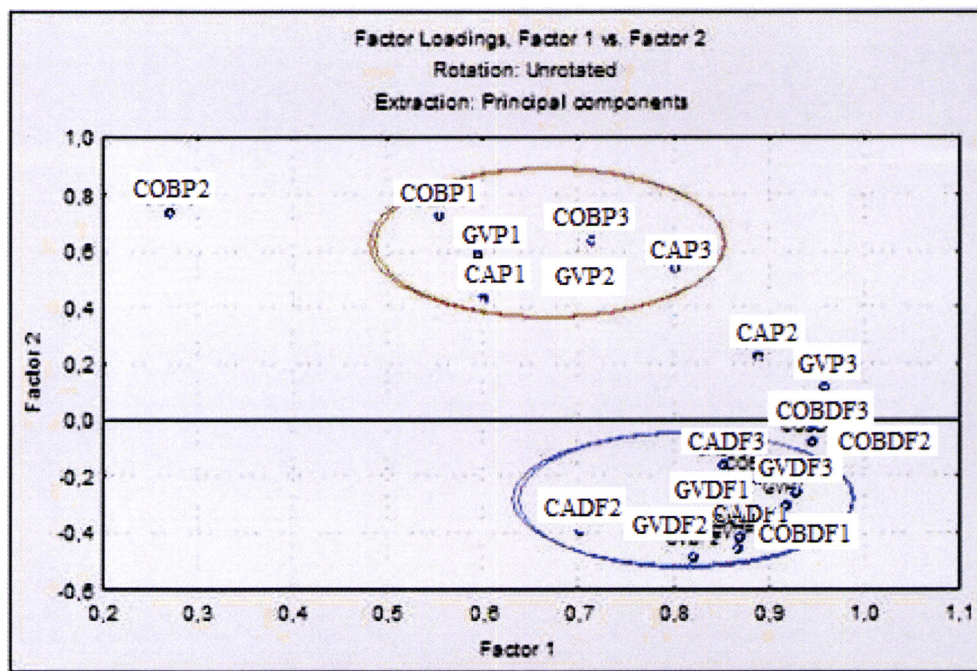


Figura 3.50

Representação bidimensional de todas as amostras nas 1ª e 2ª componentes principais.
COBP-Cobrançosa/Prensa; CAP- Carrasquenha/Prensa; GVP- Galega vulgar/Prensa; COBDF- Cobrançosa/Duas Fases; CADF- Carrasquenha/Duas Fases; GVDF- Galega vulgar/Duas Fases.

Na figura 3.50 é possível visualizar claramente a separação dos azeites de Prensa e Duas Fases ao longo da 1ª e 2ª componentes principais para todas as amostras.

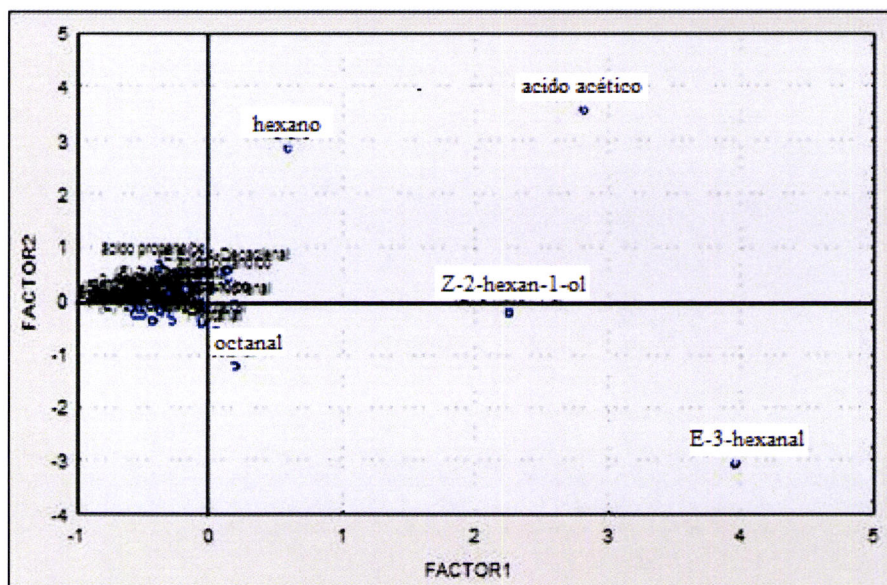


Figura 3.51

Representação bidimensional de todos os compostos identificados, segundo a 1ª e 2ª componentes principais.

A influência de cada composto, nas 1ª e 2ª componentes principais para todas as amostras, pode ser visualizada na figura 3.51. A maior densidade de compostos, que surgem nos quadrantes da esquerda, posicionam-se próximos da origem pelo que a sua contribuição para discriminar as amostras é reduzida. Nos quadrantes da direita, e mais afastados da origem, surgem os compostos ácido acético (atributo “Avinhado-avinagrado”), hexano, Z-2-hexen-1-ol (atributo “Amargo”), E-3-hexenal (atributo “Frutado”) e octanal (atributo “Ranço”) que parecem discriminar as amostras de azeite do método de Prensa das amostras obtidas pelo método de Duas Fases, ao longo da 2ª componente principal. Esta separação pode resultar da acidificação, resultante do processo de decantação utilizado não ser o mais adequado à realidade actual, e por outro lado a excessiva oxidação que o processo de encapachamento e prensagem provocam.

Apesar dos resultados obtidos ser já bastante elucidativo, o facto de se recorrer a mais informação sobre o perfil aromático pode melhorar o nível de conhecimento, podendo ajudar a explicar mais pormenorizadamente a influência da tecnologia na qualidade final do azeite. O recurso a GCxGC como método de análise, permite, ao analisar em duas dimensões ortogonais (figura 3.52 B), aumentar a resolução e, de forma expressiva, a quantidade de informação obtida.

3.3.5. GCXGC-MS

A análise por GCxGC foi igualmente aplicada a azeites provenientes dos dois processos de extracção e para as três cultivares, Galega Vulgar, Carrasquenha e Cobrançosa.

A vantagem oferecida pelo aumento de informação pode também ser encarada como uma dificuldade (figura 3.52 B). Esta dificuldade prende-se principalmente com o tratamento dos dados.

As colunas capilares utilizadas para o GCxGC (SGE International, Ringwood, Austrália) foram uma BPX5 (5% fenil-dimetil polisilfenileno-siloxane), directamente acoplada a uma segunda coluna de BPX20 (polietileneglicol) (condições ver parte experimental 2.1.3.2.15.).

Esta opção deve-se ao facto de este tipo de colunas apolares do tipo BPX5 permitir obter índices de retenção mais constantes (Goodner, 2008), e como a esta está

acoplada uma do tipo BPX20, vai colmatar em parte as desvantagens da primeira relativamente à separação de compostos voláteis (Supelco, 2007).

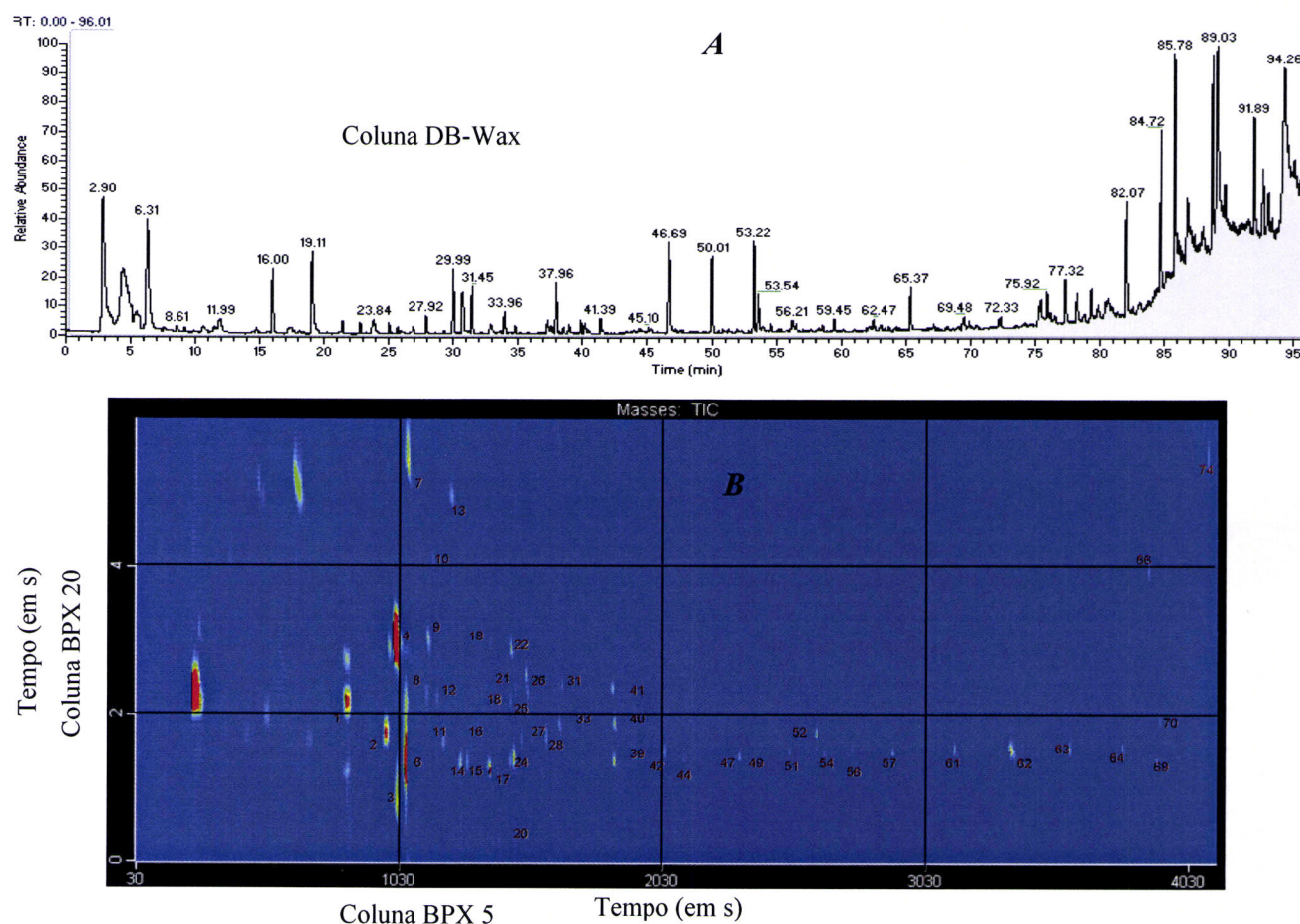


Figura 3.52

Comparação entre um cromatograma obtido por HS-SPME-GC-MS (A) com o gráfico bidimensional para o azeite analisado por HS-SPME-GC×GC/ToF-MS (B), para a Galega Vulgar, extracção por Prensas (condições ver parte experimental 2.1.3.2.14. e 2.1.3.2.15.).

Quando o objectivo é, como neste caso, a comparação de perfis sensoriais e não, exclusivamente, a identificação exaustiva da totalidade dos compostos presentes. O tratamento dos dados poderá eventualmente ser demasiado oneroso e, preferencialmente, ser substituído por uma análise de imagem.

A análise de imagem, se validada, será encarada como “método para redução de variáveis”, tornando viável, apenas, a identificação das variáveis/compostos responsáveis pela caracterização.

Para tal os diagramas obtidos, resultado da cromatografia GCxGC, foram divididos em quadrantes com o mesmo tamanho (cada um com 1000 s na ¹D (1ª dimensão) e 2 s na ²D (2ª dimensão) (no anexo X temos exemplos dos gráficos obtidos

para os diferentes azeites). A figura 3.53 mostra as referidas divisões por quadrantes. Todas as divisões por quadrantes traduzem diferentes volatilidades (1D) e polaridades (2D) de acordo com o conjunto de colunas utilizadas.

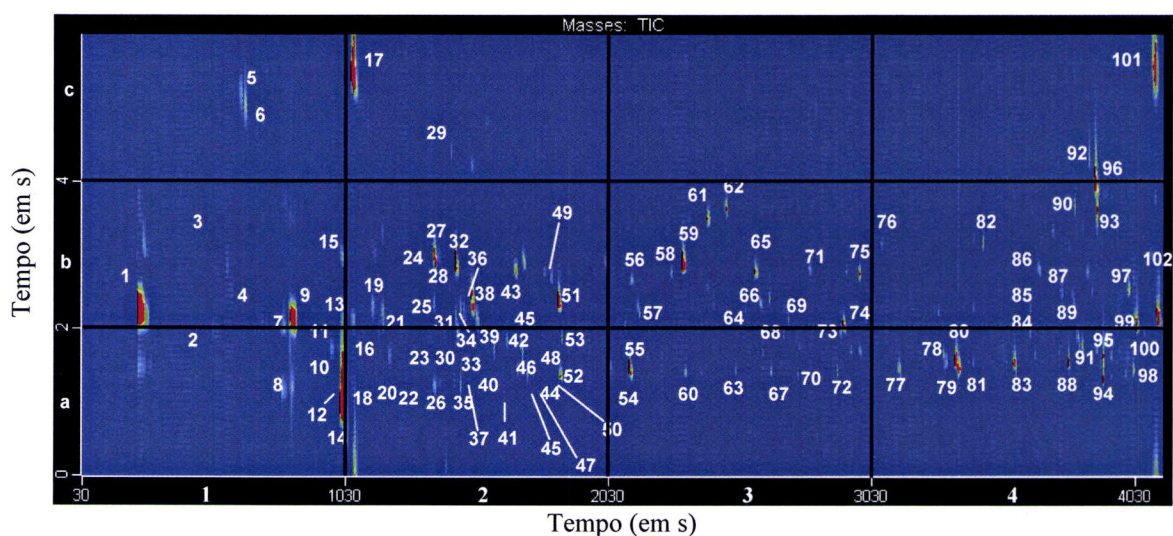


Figura 3.53

Divisões dos quadrantes com o mesmo tamanho, cada um com 1000 s na 1D (1ª dimensão, *a*, *b* e *c*) e 2 s na 2D (2ª dimensão, *1*, *2*, *3* e *4*). E referência aos compostos detectados. (condições ver parte experimental 2.1.3.2.15.)

Os compostos presentes em cada um dos sectores são identificados no quadro 3.17, e organizados em quadrantes de acordo com o sistema estabelecido.

Quadro 3.17

Identificação dos compostos presentes em cada um dos quadrantes para a totalidade dos azeites analisados.

Compound Nr.		Sector do Cromatograma	¹ t _R	² t _R
1	Etanol	1b	252	2.340
2	3-Metil-butan-2-ona	1a	504	2.080
3	Pentan-2-ona	1b	504	2.990
4	3-hidroxi-butan-2-ona	1b	600	2.570
5	2-metil-butanol	1c	642	5.120
6	3-metil-butanol	1c	654	5.060
7	Hexanal	1b	828	2.170
8	2,4-Dimetil-heptana	1a	858	1.130
9	2,3,5-Trimetil-hexana	1b	858	2.070
10	2,4-Dimetil-hept-1-ene	1a	930	1.204
11	Oct-1-ene	1a	930	2.230
12	n.i.	1a	1008	1.170
13	4-Metil-octane	1a/b	1014	2.130
14	Z-Hex-3-en-1-ol	1a	1020	0.870
15	Hexen-2-al (<i>isomer</i>)	1a	1020	3.040
16	E-Hex-3-en-1-ol	2b	1062	1.250
17	Hexanol (<i>“wraparound”</i>)	2c/a	1056	5.680
18	2,5-Dimetil-hepta-1,6-dieno	2a	1110	1.310
19	Heptan-2-one	2b	1128	2.310
20	Nonane	2a	1134	1.210
21	Heptanal	2b	1176	2.210
22	3-Etil-octa-1,5-diene (<i>isómero</i>)	2a	1266	1.360
23	3-Etil-octa-1,5-diene (<i>isómero</i>)	2a	1290	1.370
24	n.i.	2b	1284	1.630
25	1-Etil-4-metil-benzeno	2b	1368	2.150
26	Siloxano (<i>sangramento da coluna</i>)	2a	1374	1.290
27	Hept-2-enal (<i>isómero</i>)	2b	1374	3.030
28	Oct-1-en-3-one	2b	1428	2.620
29	Oct-1-en-3-ol	2c	1434	4.510
30	3-Etil-octa-1,5-dieno (<i>isómero</i>)	2a	1452	1.400
31	Oct-3-ona	2b	1452	2.210
32	6-Metil-hept-5-en-2-ona	2b	1452	2.910
33	2-Etil-6-metil-hepta-1,5-dieno (<i>isómero</i>)	2a	1464	1.470
34	Oct-2-ona	2a	1470	2.340
35	Decane	2a	1488	1.220
36	Trimetil-benzeno (<i>isómero</i>)	2b	1488	2.200
37	Hidrocarboneto ramificado C11	2a	1506	1.220
38	Octanal	2b	1518	2.280
39	Limoneno	2a	1590	1.700
40	Hidrocarboneto ramificado C11	2a	1620	1.260

Quadro 3.17 (continuação)

Identificação dos compostos presentes em cada um dos quadrantes para a totalidade dos azeites analisados.

Compound Nr.		Sector do Cromatograma	¹ t _R	² t _R
41	Hidrocarboneto ramificado C11	2a	1644	1.290
42	Ocimene (<i>isomer</i>)	2a	1644	1.840
43	Hidrocarboneto ramificado C11	2b	1644	2.220
44	Undecano	2a	1662	1.200
45	Hidrocarboneto ramificado C12	2b	1662	2.170
46	2,4,6-Trimetil-non-1-ene	2a	1716	1.280
47	Hidrocarboneto ramificado C12	2a	1764	1.260
48	Hidrocarboneto ramificado C12	2a	1788	1.330
49	Nonan-2-one	2b	1794	2.430
50	Hidrocarboneto ramificado C12	2a	1836	1.280
51	Nonanal	2b	1842	2.370
52	Siloxano (<i>sangramento da coluna</i>)	2a	1848	1.370
53	4,8-Dimetil-nona-1,3,7-triene (<i>isómero</i>)	2a	1848	1.900
54	Dodecane	3a	2100	1.240
55	3,7-dimetil-octan-1-ol	3a	2112	1.490
56	Decen-4-al (<i>isómero</i>)	3b	2118	2.670
57	Decanal	3b	2148	2.220
58	Decen-2-al (<i>isómero</i>)	3b	2268	2.760
59	Decen-2-al (<i>isómero</i>)	3b	2310	2.900
60	Tridecano	3a	2382	1.41420
61	Deca-2,4-dienal (<i>isómero</i>)	3b	2406	3.490
62	Deca-2,4-dienal (<i>isómero</i>)	3b	2478	3.620
63	n.i.	3a	2514	1.450
64	n.i.	3b	2550	2.280
65	Undec-2-enal (<i>isómero</i>)	3b	2586	2.790
66	n.i.	3b	2604	2.380
67	Tetradecane	3a	2646	1.430
68	n.i.	3a	2694	1.930
69	n.i.	3b	2712	2.140
70	Siloxano (<i>sangramento da coluna</i>)	3a	2748	1.390
71	6,10-Dimetil-undeca-5,9-dien-2-one (<i>isomer</i>)	3b	2796	2.810
72	Pentadecane	3a	2898	1.420
73	Aromadendrene	3a/b	2910	1.980
74	α -Farnesene (<i>isómero</i>)	3b	2922	2.060
75	Farnesol (<i>isómero</i>)	3b	2982	2.750
76	Farnesol (<i>isómero</i>)	4b	3066	3.150
77	Hexadecane	4a	3138	1.430
78	Hexadeca-1,9-diene (<i>isómero</i>)	4a	3300	1.670

Quadro 3.17 (conclusão)

Identificação dos compostos presentes em cada um dos quadrantes para a totalidade dos azeites analisados.

Compound Nr.		Sector do Cromatograma	¹ t _R	² t _R
79	Hexadec-7-ene (<i>isômero</i>)	4a	3312	1.540
80	n.i.	4a	3348	1.570
81	Heptadecano	4a	3360	1.470
82	n.i.	4b	3450	3.160
83	Octadecane	4a	3570	1.540
84	Isopropil miristate	4a	3630	1.950
85	Dodecanal	4b	3630	2.290
86	Farnesol (<i>isômero</i>)	4b	3660	2.840
87	8-Hidroxilinalool	4b	3750	2.480
88	Nonadecane	4a	3774	1.550
89	Ácido Hexadec-7-enoic metil ester (<i>isômero</i>)	4b	3798	2.340
90	n.i.	4b	3798	3.650
91	Ácido Hexadecanoic metil ester	4a	3828	1.760
92	Ácido Palmítico	4c	3852	4.340
93	n.i.	4b	3882	3.580
94	Eicosane	4a	3906	1.320
95	Ácido Hexadecanoic etil ester	4a	3906	1.640
96	n.i.	4b/c	3876	4.180
97	Acetato Farnesil	4b	4002	2.540
98	Heneicosane	4a	4020	1.440
99	Metil linoleaidate	4b	4026	2.150
100	n.i.	4a	4038	2.140
101	Ácido Oleico	4a/c	4090	5.552
102	Etil linoleate	4a	4110	2.210

ni – não identificado

Através desta divisão, utilizada para todas as amostras, a área total dos sinais cromatográficos para cada quadrante foi obtida através da soma das áreas relativas de cada composto no respectivo quadrante (quadro 6.24, anexo XIII).

De forma semelhante, para cada um dos quadrantes e através da utilização do *software* ImageJ foi possível obter valores que correspondem à contagem dos pixels (função da cor obtida) 8 bits, para um dos quadrantes, quadro 6.25, anexo XIII.

3.3.5.1. Validação do tratamento

Recorrendo a uma análise de variância Tukey ANOVA verificou-se não haver diferenças significativas entre os resultados obtidos pelo *software* ImageJ e os

resultados obtidos pelas áreas dos sinais cromatográficos após o processamento pelo *software* LECO Corp ChromaTOF™, permitindo assim a validação dos resultados obtidos pela transformação por imagem.

Quando as áreas para cada um dos compostos é obtida após o processamento pelo *software* LECO Corp ChromaTOF™, podemos observar que os sectores 1a, 1b, 2a, 2c, 3a, 3b, 4a, 4b, são responsáveis pelas diferenças significativas entre amostras de azeite (figura 3.54) enquanto nos outros quadrantes, não se verificaram diferenças significativas.

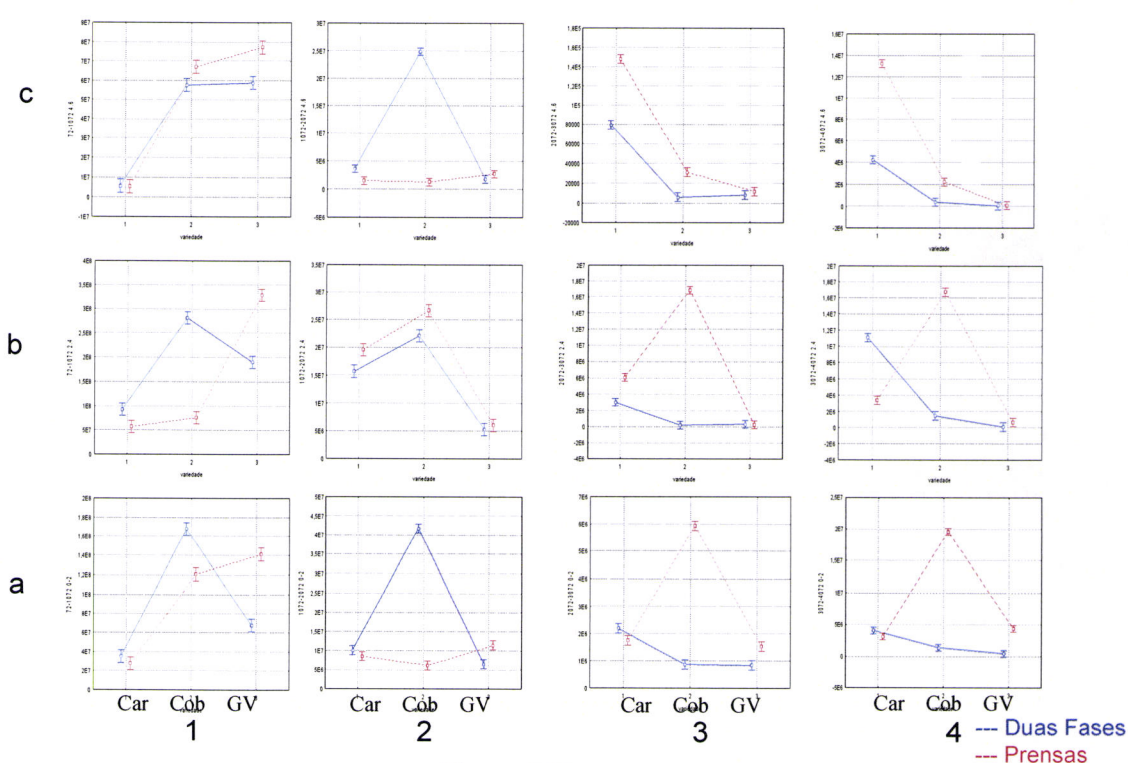


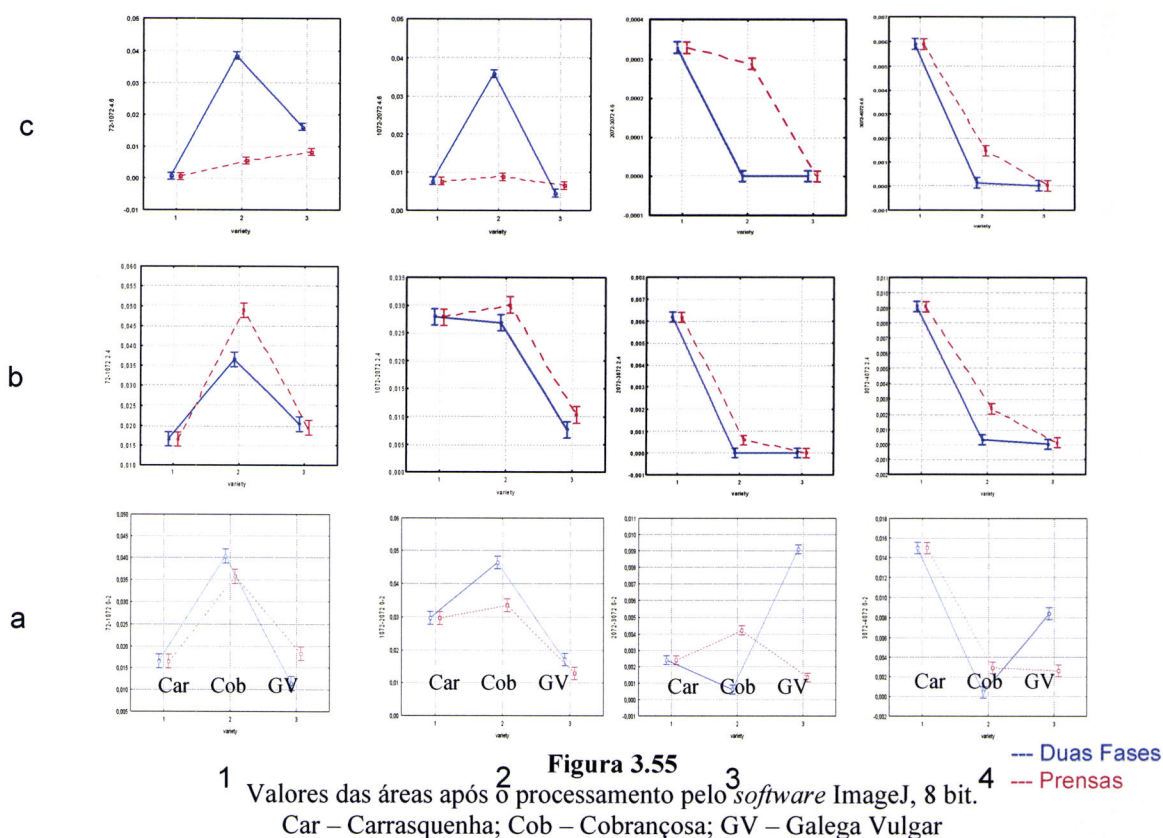
Figura 3.54

Valores das áreas após o processamento pelo *software* LECO Corp ChromaTOF™.

Car – Carrasqueira; Cob – Cobrançosa; GV – Galega Vulgar

Ainda na figura 3.54, exemplos de similaridade podem ser encontradas nos sectores 1c, 2b, 3c e 4c.

A figura 3.55 representa o mesmo estudo efectuado para o caso anterior mas para os dados obtidos após o tratamento efectuado pelo *software* ImageJ, imagens 8 bit.



Neste caso, os sectores 1c, 2c, 3a, 3c e 4a, são responsáveis pelas diferenças significativas entre amostras de azeite.

Ao comparar os resultados da figura 3.54 com a da figura 3.55 verificamos que os resultados obtidos nos sectores 2b, 2c e 4c, obtidos pelos diferentes *softwares*, as diferenças são, não significativas ao passo que nos outros quadrantes se verificaram diferenças significativas.

Estes resultados mostram que, após a transformação com o ImgeJ para imagens 8 bit, aparentemente, parece haver uma perda de diferenças significativas entre as amostras. Contudo, a possibilidade de diferenciação após análise multivariável não pode ser descurada.

A análise de componentes principais (PCA) foi aplicada com o intuito de definir qual ou quais os quadrantes que apresentam uma maior discriminação entre amostras e, consequentemente, permitir a redução das variáveis (áreas dos sinais cromatográficos). Este facto pode, reduzir o esforço na identificação necessário para uma posterior caracterização da matriz.

3.3.5.2 Análise de componentes principais (*Principal Components Analysis - PCA*)

A análise por PCA foi aplicada as áreas dos sinais cromatográficos e os dados obtidos pela utilização do *software* ImageJ *software*, para todos os 12 sectores estabelecidos.

A figura 3.56 A e 3.56 B representam a projecção bidimensional dos dados obtidos depois do processamento por LECO Corp ChromaTOF™ e da projecção das respectivas variáveis.

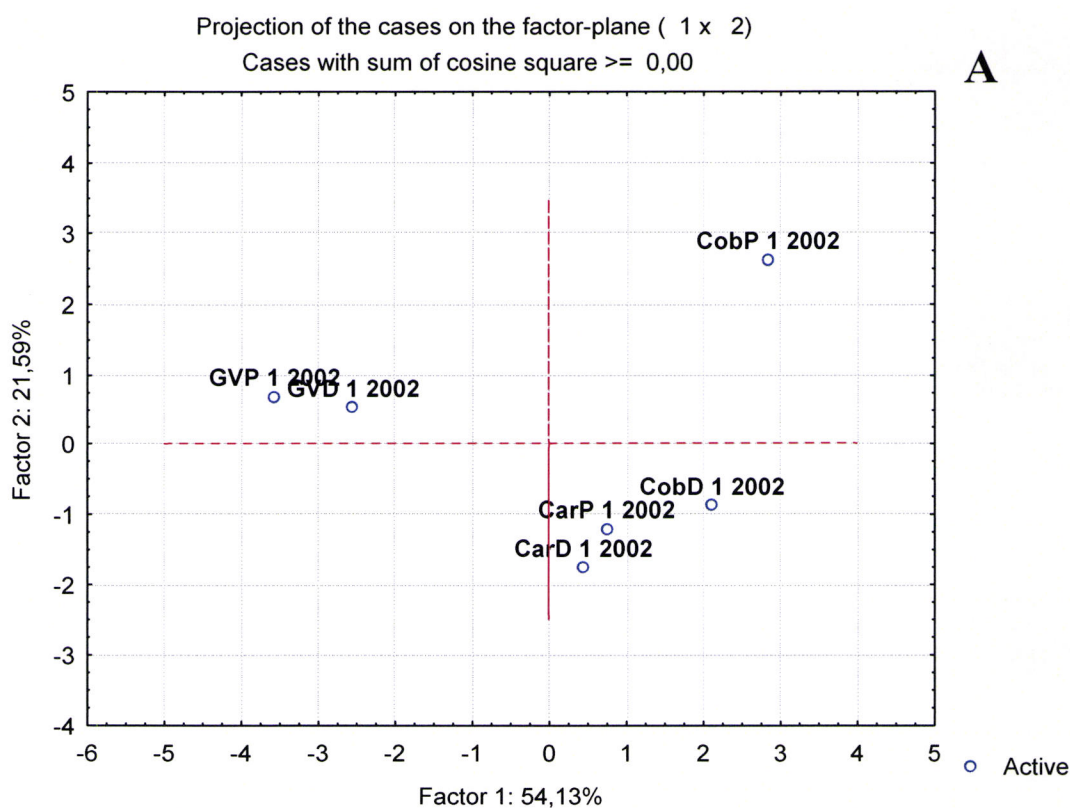
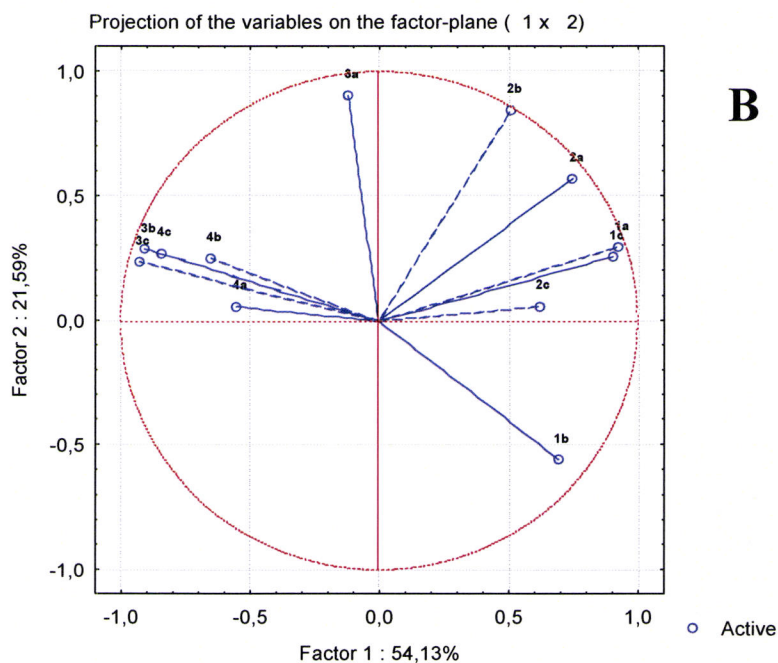


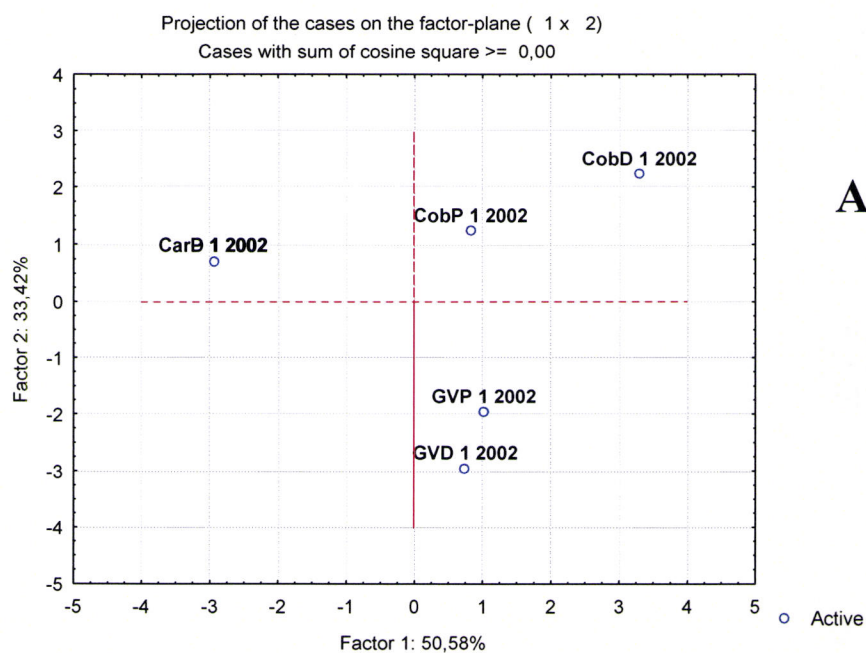
Figura 3.56
Gráficos obtidos *software* LECO Corp ChromaTOF™. A – Amostras B – Quadrantes.



B

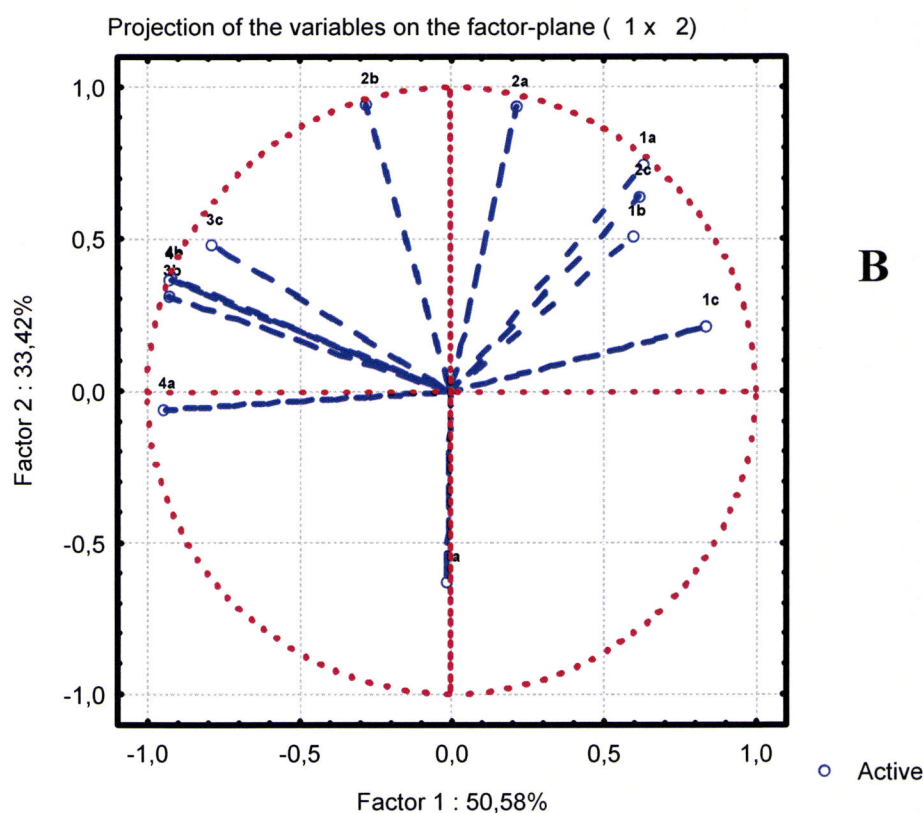
Figura 3.56 (continuação)
Gráficos obtidos *software* LECO Corp ChromaTOF™. A – Amostras B – Quadrantes.

As figura 3.57 A e 3.57 B são as projecções equivalentes considerando após o processamento com o *software* ImageJ, 8 bits.



A

Figura 3.57
Gráficos obtidos *software* ImageJ, 8 bits. A – Amostras B – Quadrantes.



O número total de amostras estudadas foi de 18, os gráficos representam a média de 3 replicadas. Para o sistema de processamento ChromaTOF™, as 3 primeiras componentes principais explicam 86% da variância quando as respectivas variáveis são consideradas (variáveis com valores próprios >1) (75% nas duas primeiras componentes). Para o tratamento por ImageJ, 8 bits, as 3 primeiras componentes principais explicam mais de 94% da variância (83,9% nas duas primeiras componentes principais) (figura 3.57 A e B).

No processamento por ChromaTOF™ os compostos presentes nos quadrantes 3b, 3c, 4a, 4b e 4c, são os principais responsáveis pela separação dos azeites obtidos para a cultivar Galega Vulgar das outras duas cultivares. Para a Carrasquenha, os compostos presentes no quadrante 1b parecem ser os que a diferenciam das outras duas, em quanto para a Cobrançosa as variáveis localizadas nos quadrantes 1a, 1c, 2a e 2c são as que maior impacto têm para a separação observada.

No caso dos dados serem processados por ImageJ, a separação da Galega Vulgar das outras duas baseia-se nos compostos presentes no quadrante 3a; os compostos

presentes nos sectores 3c, 3b, 4a e 4b separam a cultivar Carrasquenha; e a cultivar Cobrançosa é caracterizada pelos quadrantes 1a, 1b, 1c, 2a e 2c.

Ao utilizar o *software* ImageJ obtém-se, não só melhor percentagem na explicação da variância total após a análise por PCA, em relação ao sistema de processamento por ChromaTOFTM, mas também melhor separação das amostras (figuras 3.57 A e B).

Para a mesma variedade, a análise por PCA, considerando as áreas obtidas pelo sistema de processamento ChromaTOFTM, permite a diferenciação entre as duas tecnologias de extracção utilizadas (Duas Fases e Prensas) para as três cultivares estudadas. Contudo tal não foi possível de verificar para a variedade Carrasquenha quando foi utilizado o *software* ImageJ.

Porém, ao utilizar o *software* ImageJ, e comparando com os resultados em que se utilizam as áreas dos sinais cromatográficos, é possível seleccionar compostos que contribuem mais para as separações verificadas. Estes compostos são de facto os que interessa serem identificados.

3.3.5.3. RGB

Com o intuito de potenciar o *software* ImageJ, experimentou-se a passagem de imagens 8 bits para imagens RGB (*Red Green Blue*) sistema em que a complexidade da informação aumenta, tal como a informação obtida. Para cada amostra de azeite deixamos de ter apenas um gráfico bidimensional para passar a ter três gráficos, permitindo assim maior sensibilidade na quantidade de cada composto que constitui o perfil de compostos voláteis de determinado azeite. Cada um destes gráficos diz respeito às cores RGB, vermelho, azul e verde.

Para cada um dos quadrantes e através da utilização do *software* ImageJ, RGB, foi possível obter valores característicos, para cada uma das cores, quadros 6.26 a 6.28 do anexo XIII.

3.3.5.3.1. Análise de componentes principais (*Principal Components Analysis - PCA*)

A Análise por PCA foi realizada à semelhança do que foi feito para os valores obtidos pela utilização do *software* ImageJ software 8 bit, para todos os 12 sectores estabelecidos, e neste caso específico para as 3 cores em consideração.

Relativamente aos valores obtidos para imagens divididas em RGB e aplicando o mesmo critério de escolha de componentes principais com base no valor próprio superior a 1, o quadro 3.23 apresenta 5 componentes significativos que explicam 100,00% da variância.

Quadro 3.18

Valores próprios e extracção das componentes principais, para os valores obtidos das imagens dos gráficos GCxGC.

Componente Principal	Valor Próprio	% Variância Total	% Variância Total Acumulativa	% Variância Total Acumulativa
1	17,56	51,65	17,56	51,65
2	9,86	29,01	27,42	80,66
3	2,89	8,51	30,32	89,16
4	2,01	5,91	32,33	95,08
5	1,67	4,92	34,00	100,00

O primeiro eixo de análise de Componentes Principais explica 51,65% da variância total e é composto pelo sector 4cG e 2bR.

A figura 3.58 ilustra a representação dos parâmetros relativamente aos dois eixos dos componentes principais, onde se pode observar o agrupamento destes parâmetros. O segundo eixo é composto pelos parâmetros 1bB e 2cR.

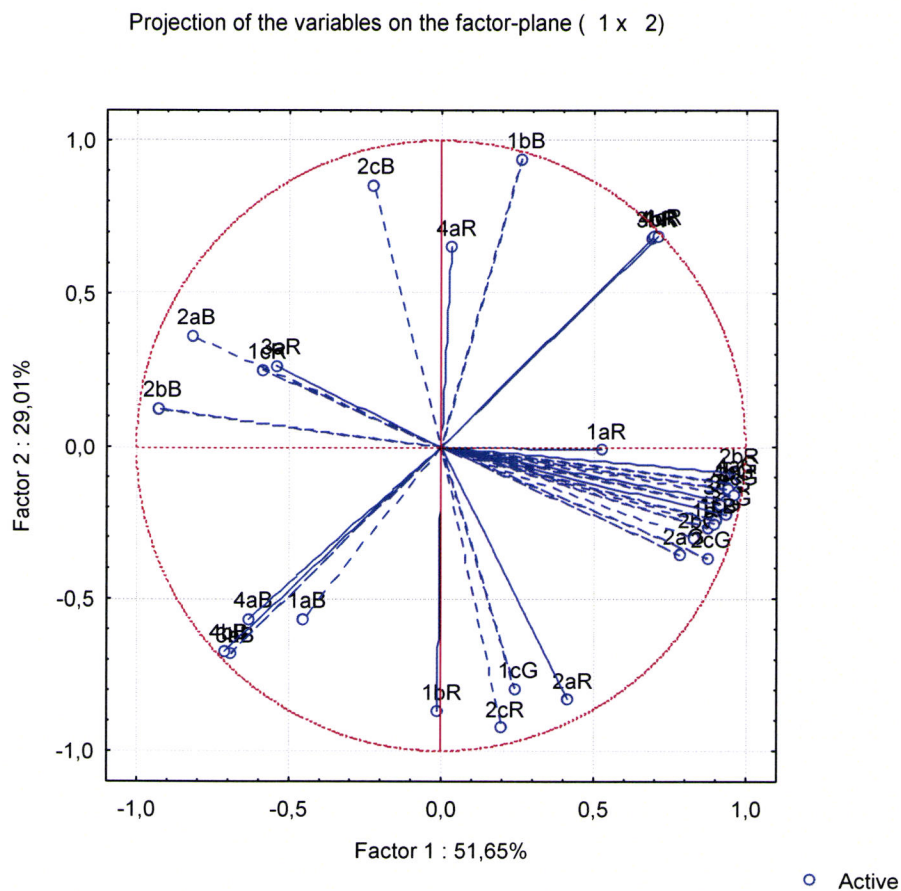
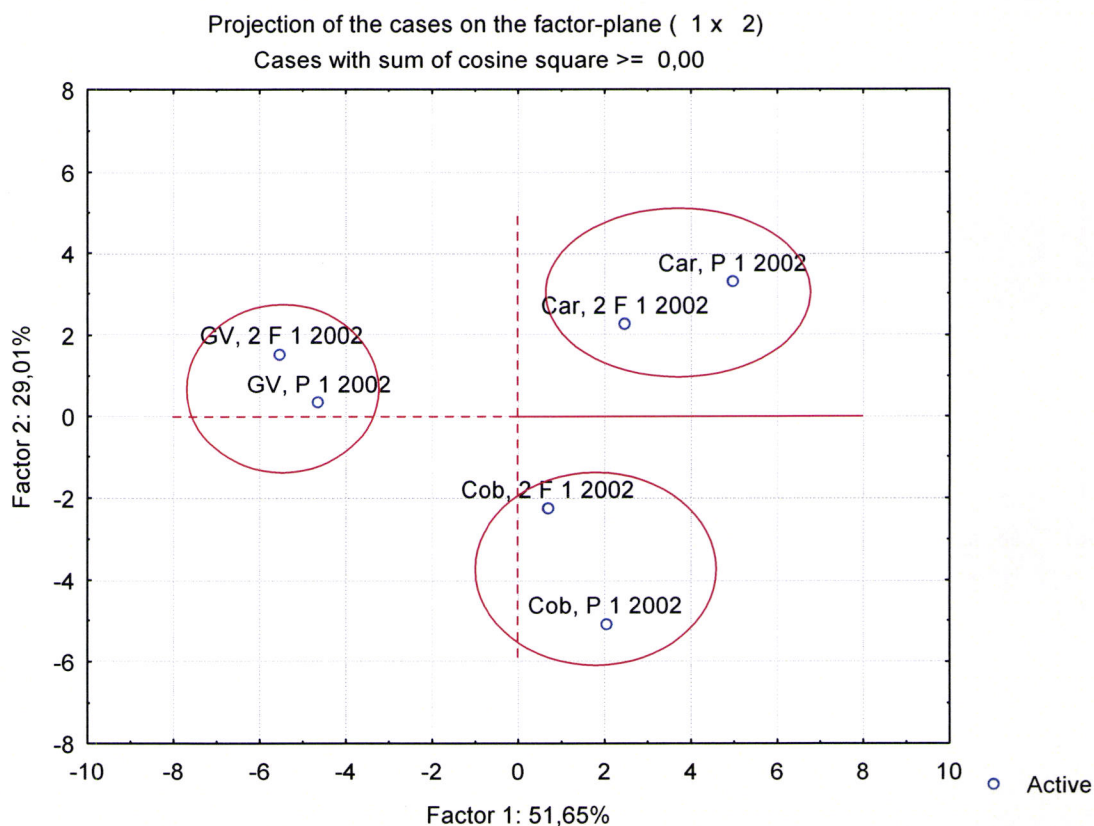


Figura 3.58

Representação gráfica das variáveis relativamente aos dois eixos das Componentes Principais, imagens GCxGC, para RGB.

A projecção das amostras de azeite de cada uma das variedades e métodos de extracção é apresentada na figura 3.58. Consegue-se representar três grupos de amostras, no plano principal formado pelas duas componentes principais (figura 3.59), permitindo a diferenciação, quer por cultivares quer por métodos de extracção utilizados, melhorando assim os resultados obtidos para 8 bits.

**Figura 3.59**

Projecção das amostras para as diferentes variedades e métodos de extracção, imagens GCxGC, para RGB.

De uma forma conclusiva pode-se afirmar que, com a utilização desta metodologia, a complexidade e a morosidade de identificar todos os dados obtidos por GC×GC/ToF-MS é consideravelmente simplificada. Tanto quanto se sabe, esta metodologia, até à data, não foi aplicada, embora a sua possível utilização já tenha sido referida (Cardeal *et al.*, 2008). Com esta metodologia, rápida e de utilização fácil, pode-se reduzir de forma drástica a quantidade de dados necessários para a caracterização por “impressão digital”. O tempo necessário para extrair a informação necessária é igualmente reduzido.

CAPÍTULO IV

CONCLUSÕES

Conclusões

Dos objectivos inicialmente propostos a maioria foram atingidos.

Para as azeitonas utilizadas neste trabalho, foi possível verificar uma homogeneidade ao longo dos anos, para as três variedades testadas. De uma forma conclusiva podemos, então, mencionar que através do estudo das amostras de azeitonas verificámos que níveis pequenos de infestação de gafa (*Gloeosporium olivarum* Alm.) e de mosca da azeitona (*Bactrocera oleae*) podem ser tolerados não afectando de forma significativa a qualidade do azeite obtido, contribuindo assim para a consideração do “nível económico de ataque”, tendo como objectivo final o azeite.

Nos azeites, verificou-se que a acidez e a análise sensorial são os parâmetros que caracterizam melhor o azeite, associando-se a tecnologia de prensas a valores de acidez mais elevados e os azeites obtidos pela tecnologia de duas fases a pontuações superiores da análise sensorial.

Dos parâmetros de “pureza” pôde concluir-se que: os esteróis analisados não contribuíram de nenhuma forma, para a discriminação dos azeites; os ácidos gordos, permitiram fazer a separação entre variedades, independentemente do tipo de extracção e do ano de colheita, mostrando assim que o perfil de ácidos gordos poderá ser utilizado na caracterização de cultivares; também os triacilgliceróis, permitiram a separação entre variedades, independentemente do tipo de extracção e do ano de colheita, mostrando igualmente que o perfil de triacilgliceróis poderá vir a ter impacto na caracterização de cultivares. Este parâmetro revelou-se mais evidente para as cultivares Carrasquenha e Galega Vulgar. Foi também possível constatar que a resistência oxidativa e o ácido oleico (C18:1), variam inversamente com o ácido linoleico (C18:2) e o ácido linolénico (C18:3), o que mostra o papel determinante que o aumento dos ácidos gordos polinsaturados tem na diminuição da resistência à oxidação dos azeites. Verificaram-se diferenças não significativas, entre os dois métodos de extracção, relativamente aos teores de polifenóis, ceras e tocoferóis. Os álcoois alifáticos poderão ser um parâmetro interessante na caracterização varietal dos azeites.

Da comparação da análise sensorial *versus* o “nariz electrónico”, pode concluir-se que, para os azeites produzidos com a cultivar Galega Vulgar, nas colheitas entre 2001-2004 usando diferentes métodos de extracção, não é possível detectar diferenças entre os métodos de extracção utilizando a análise sensorial electrónica. Uma justificação para este facto pode ser a complexidade da amostra, tal como a baixa volatilidade e baixa concentração de compostos voláteis (Drake *et al.*, 2003). A análise sensorial, parece ser mais efectiva na detecção de diferenças mais globais. Estes resultados talvez sejam explicados pela complexidade dos compostos que contribuem para o resultado organoléptico, em que as amostras são cheiradas e saboreadas, enquanto que no nariz electrónico apenas os compostos mais voláteis são avaliados.

Para os compostos do aroma, o método SPME mostrou ser uma técnica de extracção, rápida e sensível (GC-MS). Apesar do número de compostos extraídos ser muito inferior aos já identificados por outros autores, estes compostos foram suficientes para distinguir as diferentes amostras. A técnica pode, eventualmente vir a ser mais optimizada. A fibra DVB/CAR/PDMS revelou ser capaz de extrair um maior número de compostos, apresentando maior sensibilidade para os compostos presentes em concentrações vestigiais do azeite. A presença, nas diferentes amostras, de compostos provenientes de processos intensos de oxidação e fermentação, permitiu distinguir as amostras de azeite provenientes de diferentes métodos de extracção. Os azeites de Prensa apresentaram um aroma “Avinhado-avinagrado” característico atribuível principalmente à descontinuidade deste método de extracção, com algumas notas positivas de “Frutado” e “Amargo”. Os azeites obtidos pelo método de duas fases apresentaram notas superiores de “Frutado” e “Amargo”. No entanto, tempo excessivo de filtração ou pequenas alterações de temperatura durante o processo de engarrafamento, conduziram ao aparecimento de notas negativas e desagradáveis de “Ranço” nestes azeites. Assim sendo, face aos resultados, é possível conceber um método de amostragem e análise experimental passível de ser implementado em análises de rotina, para a caracterização de determinados compostos do aroma do azeite, por GC-MS. Não houve porém capacidade de distinção entre variedades (Giddings, 1995).

Em relação ao GCxGC-MS, a cromatografia gasosa bidimensional mostrou ser capaz de extrair informação valiosa, que não foi possível extrair com a análise unidimensional GC. A introdução de um método de análise por imagem (ImageJ)

permitiu tornear as dificuldades inerentes à quantidade de informação fornecida pelo método GCxGC-MS. Este trabalho demonstra que o software ImageJ é uma alternativa, limpa e rápida, para extrair informação correcta dos diagramas obtidos por GCxGC-MS, quando a obtenção de um perfil característico é o principal objectivo. Os resultados mostram que, com o software adequado, associado aos cromatogramas 2D-GCxGC, é fácil realizar uma análise rápida da “impressão digital”. Foi possível a diferenciação das diferentes cultivares, assim como as diferentes tecnologias de extracção.

Estes resultados abrem a possibilidade de utilização da tecnologia GCxGC-MS associado a um *software* de imagem, como o ImageJ, na autenticação e controlo de fraudes, e na caracterização rápida da matriz, mesmo quando não utilizado por técnicos especialistas nos métodos envolvidos.

De uma forma sintética, pode-se dizer que este trabalho constitui um contributo para a caracterização das variedades e dos métodos de extracção em estudo bem como para a abertura de novas aplicações para a indústria nomeadamente na autenticação de azeites.

**REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS**

- **Agencia para el Aceite de Oliva (2007)**, in <http://intereweb.mapa.es/pwAgenciaAO/General.aao>.

- **Alasalvar, C.; Shahidi, F.; Ohshima, T.; Wanasundara, U.; Yurttas, H.C.; Liyanapathirana, C.M.; Rodrigues, F.B. (2003)**– *Turkish Tombul Hazelnut. 2. Lipid characteristics and oxidative stability*. - Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, pp. 3797–3805.

- **Almela, J.A.; Fernandez-Lopez, M.J. Roca (2000)**– *High-performance liquid chromatographic screening of chlorophyll derivatives produced during fruit storage*. - J. Chromatogr. A, 870, pp. 483-489.

- **Amiot, M. J.; Fleuriot, A.; Macheix, J. J. (1989)** - *Accumulation of oleuropein derivatives during olive maturation*. – Phytochemistry, 28, pp. 67–69.

- **Amirante P; Baccioni L; Bellomo F; Di Renzo G C (1987)**– *Installations pour l'extraction d'huile d'olive a partir de pates d'olives de noyantees [Olive oil extraction plants using stoned olive pastes]*. - Olivae, 17, pp. 24–29

- **Amirante, P.; Catalano, P. (1993)**– *Analisi teorica e sperimentale dell'estrazione dell'olio d'oliva per centrifugazione [Theoretical and experimental analysis of olive oil extraction by centrifugation]*. - Rivista Italiana Sostanze Grasse, LXX, pp. 329–336

- **Amirante, R.; Catalano, P. (2000)** - *Fluid dynamic analysis of the solid–liquid separation process by centrifugation*. - Journal of Agricultural Engineering Research, 77(2), pp. 193–201

- **Andreasen, M. R.; Sevestre, S. (1997)** - *Assessment of weed density at an early stage by use of image segmentation*. - Weed Research 37, pp. 5–18.

- **Angerosa, F.; Basti, C.; Vito, R. (1999)** - *Virgin olive oil volatile compounds from lipoxygenase pathway and characterization of some italian cultivars.* - J. Agri. Food Chem, 47, pp. 836-839.

- **Angerosa, F.; Mostallino, R.; Basti, C.; Vito, R.; (2000)** - *Virgin olive oil odour notes: their relationships with volatile compounds from the lipoxygenase pathway and secoiridoid compounds.* - Food Chemistry, 68, pp. 283-287.

- **Angerosa, F.** - Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels.- European Journal of Lipid Science and Technology, **2002**, 104, 9–10, pp. 639–660.

- **Angerosa, M. S.; Roberto, S., Taticchi, A.; Esposto, S.; Montedoro, G. (2004)** - *Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality.* - Journal of Chromatography A, 1054, pp. 17–31

- **Antoniassi, R. (2001)**- *Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras.* - Boletim do CEPPA, Curitiba, jul.dez., v.19, n.2, pp. 353-380.

- **Akoh, D. B. M. (2002)** - *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology.* - CRC; 2nd edition, pag. 1032.

- **Aparício, R.; Morales, M.T.; Alonso, V. (1997)** - *Authentication of European virgin olive oils by their chemical compounds, sensory attributes, and consumers attitudes.* - J. Agri. Food. Chem., 45, pp. 1076-1083.

- **Aparicio, R.; Morales, M. T. (1998)** - *Characterization of olive ripeness by green aroma compounds of virgin olive oil.* - Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(3), pp. 1116–1122.

- **Aparicio, R.; Luna, G. (2002)**- *Characterization of monovarietal virgin olive oils.* - European Journal of Lipid Science and Technology, 104, pp. 614–627.

- **Aranda, S. G.; Alamo, R.M. R.; Salvador, M.D.; Fregapane, G. (2004)** - *Triglyceride, total and 2-position fatty acid composition of Cornicabra virgin olive oil: Comparison with other Spanish cultivars.* - Food Chemistry, 86, pp. 485–492.

- **Aued-Pimentel, E.; Takemoto, E.; Kumagai, E.; Cano, C. B (2008)** – *Determinação da diferença entre o valor real e teórico do triglicerídeo ECN 42 para a detecção de adulteração em azeites de oliva comercializados no Brasil.* - Quim. Nova, Vol. 31, No. 1, pp. 31-34

- **Azeite de Oliva Espanhol (2005)**- in www.azeite.com.br - *Conferência internacional sobre o efeito do Azeite de Oliva Virgem na saúde.* - Publicado a 01 de Junho de 2005.

- **Barranco, A.; Fernández-Escobar, R.; Rallo, L. (2001)**- *El cultivo del olivo* – Junta de Andalucía & Mundi Prensa, pag. 724.

- **Becker, L.; Gonçalves, A. P.; Grimaldi, R.; Fernandes, G. B. (2005)** - *Quantificação de Fitosteróis em Azeite de Oliva Importados e Disponíveis no Comércio de Campinas Utilizando Cromatografia em Fase Gasosa.* - Braz. J. Food Technol., jul./set. v.8, n.3, pp. 190-199.

- **Belitz, H. H.; Grosch. W. (1999)** - *Food Chemistry.* – Springer, Second Edition, pag. 992.

- **Bender, D.A. (1997)** - *Introduction to Nutrition and Metabolism.* - Second ed. Taylor & Francis, London, pp. 278–280.

- **Benincasa, C.; De Nino, A.; Lombardo, N.; Perri, E.; Sindona, G.; Tagarelli, A. (2003)** - *Assay of aroma active components of virgin olive oils from southern Italian regions by SPME-GC/ion trap mass spectrometry.* - Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(3), pp. 733–741.

- **Bianchi B; Catalano P. (1996)** - *Power consumption and quality features in the hammer crushing process for olive oil production.* - *Grasas y Aceitas*, 3, pp. 136–141.

- **Bocek, P.; Janák, J. (1971)** – *Flame Ionisation Detection* – *Chromatographic Reviews*, 15, pp. 111-150.

- **Boskou, D. (1996)** – *Olive Oil, Chemistry and Technology.* – AOCS Press, Champaign Illinois, pag. 159.

- **Botía, J. M.; Ortuno, A.; Benavente-García, O.; Báidez, A. G.; Frías, J.; Marcos, D.; Del Río, J. A. (2001)** - *Modulation of the biosynthesis of some phenolic compounds in Olea europaea L. fruits: Their influence on olive oil quality.* - *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, pp. 355–358.

- **Brenes, M.; Rejano, L.; García, P.; Sánchez, H.; Garrida, A. (1995)** - *Biochemical changes in phenolic compounds during spanish-style green olive processing.* - *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, pp. 2702–2706.

- **Brezmes, J.; Cabré, P.; Correig, X. (2002)** - *Identificación de diferentes tipos de aceite de oliva mediante una nariz electrónica con sensores comerciales y algoritmos de procesado de señal.* – Percepnnet in http://www.percepnnet.com/tecno07_02.htm

- **Brothwell, D.; Brothwell, P. (1969)**- *Food in Antiquity.* - Frederick A. Praeger, New York, pag. 248.

- **Brown, J. S. (1994)** - *Methods Crucial for Olive Oil Identification.* - *Inform*, v.5, n.4, pp. 451-453.

- **Bushey, J.W. J. (1990)** - *Automated Instrumentation for Comprehensive Two-Dimensional High-Performance Liquid Chromatography of Proteins*. - Anal. Chem. 62, pp. 161-167.

- **Buttery, R. G.; Takeoka, G. R. (2004)** - *Some unusual minor volatile components of tomato*. - Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(20), pp. 6264-6266.

- **Candeias, V. (2008)** - Divisão de Promoção e Educação para a Saúde, Direcção Geral da Saúde - in <http://www.dgsaude.pt/>

- **Cavalli, J.; Fernandez, X.; Loiseau, A. (2004)** - *Characterization of volatile compounds of French and Spanish virgin olive oils by HS-SPME: identification of quality-freshness markers*. - J. Agric. Food Chem. 88, pp. 151-157.

- **Cardeal, P. P. S.; Silva, M. D. R. G.; Marriott, P.J. (2008)** - *Comprehensive two-dimensional gas chromatography for fingerprint pattern recognition in cachaça production*. - Talanta, 74, pp. 793-799.

- **Cardoso, J. V. J. de C. (1965)** – *Solos de Portugal. Sua Classificação, Caracterização e Génese, 1. A Sul do rio Tejo*. – Secretaria de Estado da Agricultura, Direcção Geral dos Serviços Agrícolas, Lisboa, pag. 309.

- **Carpenter, D. H. L.; Hasdell T. A. (2000)**- *Guidelines for Sensory Analysis in Food Product Development and Quality Control*. - Springer; 2nd edition, April 2000, pag. 212.

- **Cavalli, JF; Fernandez, X; Lizzani-Cuvelier, L; Loiseau, AM. (2003)** - *Comparison of static headspace, headspace solid phase microextraction, headspace sorptive extraction, and direct thermal desorption techniques on chemical composition of French olive oils*. - J Agric Food Chem., Dec 17;51(26), pp. 7709-7716.

- **Cavalli, J.; Fernandez, X.; Loiseau, A. (2004)** - *Characterization of volatile compounds of French and Spanish virgin olive oils by HS-SPME: identification of quality-freshness markers.* - J. Agric. Food Chem., 88, pp. 151-157.

- **Christakis, G. (1996)** – *Effect of the anti-coronary club program on coronary heart disease risk- factor status.* – JAMA, 198 (6), November 7, pp. 129-135.

- **Codex Alimentarius (2003)**, Codex Stan 33 - *Norma para los Aceites de Oliva y Aceites de Orujo de Oliva* - 1981 (Rev. 2-2003), pag.9.

- International Olive Oil Council (IOOC) - **COI (2003)- Olive oil quality criteria and standards 2003** (IOOC & EU) - T.20/Doc. No. 26 – June 2003

- **Cortesi, N.; Fiorino, P.; Ponzetti, A. (2000)** - *Influencia de los cultivares y sistemas de extracción en la composición del aceite de oliva.* - Olivae, 81, pp. 36–39.

- **Czerny, M.; Grosch, W. (2000)** - *Potent odorants of raw Arabica coffee. Their changes during roasting.* - Journal of Agriculture and Food Chemistry 48, pp. 868-872.

- **De La Calle Garcia, D.; Magnaghi, S.; Danzer; K. (1996)** - *Systematic optimisation of the analysis of wine bouquet components by solid-phase microextraction.* - J. High Resol. Chromatography, 19, 5, pp. 257-262.

- **De La Calle Garcia, D.; Reichenbacher, M.; Danzer; K. (1998)** - *Analysis of wine bouquet components using headspace solid-phase microextraction-capillary Gas Chromatography.* - J. High Resol. Chromatogr., 21, pp. 373-377.

- **Diaz-Maroto**, E. Sanchez-Palomo, M.S. Perez-Coello (2004) - *Fast Screening Method for Volatile Compounds of Oak Wood Used for Aging Wines by Headspace SPME-GC-MS (SIM)* - J. Agric. Food Chem. 52, pp. 6857- 6861.

- **Di Giovacchino**, M.; Solinas, M.; Miccoli (1994) - *Effect of extraction systems on the quality of virgin olive oil.* - J. Am. Oil Chem. Soc., 71, pp. 1189-1194.

- **Drake**, P.D.; Gerard, J.P.; Kleinhenz, W.J.; Harper. (2003) - *Application of an electronic nose to correlate with descriptive sensory analysis of aged Cheddar cheese.* - Lebensm.-Wiss. U.-Technol., 36, pp. 13–20.

- **Encyclopedia Mythica**, (2008) in <http://www.pantheon.org/>.

- **Esti**, M.; Cinquanta, L.; La Notte, E. (1998) - *Phenolic compounds in different olive varieties.* - Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, pp. 32–35.

- **FAO** (Food and Agriculture Organisation), (2003). FAOSTAT database, in <http://apps.fao.org/default.htm>

- **Fenaroli**, G. (1971) - *Handbook of Flavour Ingredients.* - Furina, T.E.; Bellanca, N. (Eds.) Chemical Rubber Co., Cleaveland, , *in Kataoka et al.*, 2000.

- **Ferreira**, E.; Rodrigues, S.; Ferreira, M.; Nóbrega, J. (2002). - *Análise Exploratória dos Teores de Constituintes Inorgânicos em Sucos e Refrigerantes de Uva.* - Eclet. Química, vol.27, pp. 77-90.

- **Folin**, O.; Ciocalteau, V. (1927) - *Tyrosine and tryptophan determinations in proteins.* - J. Biol. Chem., 73, pp. 627-650.

- **Frankel**, E.N. (1993) - *In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids.* - Trends in Food Science & Technology, v.4, n.7, pp. 220-225.

- **Giddings, J. C. (1995)** - *Sample dimensionality: a predictor of order-disorder in component peak distribution in multidimensional separation.* - Journal of Chromatography A, 703, pp. 3-15

- **Gil-Av et al., (1966)** in Emanuel Gil-Av - *Present status of enantiomeric analysis by gas chromatography.* - Journal of Molecular Evolution, Volume 6, Number 2 / June, 1975, pp. 131-144.

- **Gimeno, A.I.; Castellote, R.M.; Lamuela-Raventós, M.C.; De la Torre, M.C.; López-Sabater (2002)** - *The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics, α -tocopherol, and β -carotene) in virgin olive oil.* - Food Chemistry, 78, pp. 207–211

- **Goodner, K.L. (2008)** - *Practical retention index models of OV-101, DB-1, DB-5, and DB-Wax for flavor and fragrance compounds.* – LWT, 41, pp. 951–958.

- **Gomes, H. B.; Cavaco, M. (2003)** – *Protecção integrada da oliveira. Lista dos produtos fitofarmacêuticos níveis de ataque.* – MADRP, DGPC-DSF, pág. 55.

- **Gonzalez-Martin, I.; Pavon, J. L. P.; Perez, C. G.; Mendez, J. H., Garcia, N. A. (2002)** – *Diferenciacion of products derived from Iberian breed swine by electronic olfactometry (electric nose).* - Analytica Chimica Acta, 432, pp. 279-287.

- **Gouveia, J. M. B. (1995)**– *Azeites Virgens do Alto Alentejo. Comportamento Químico, Tecnológico e Sensorial.* – Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, pág. 520

- **Gouveia, J. M. B. (1997)** - *Comparación de los Aceites de Oliva de los Cultivares Cobrançosa, Blanqueta, Azeiteira y Picual con los del cv. Galega Vulgar, Producidos en el Norte del Alentejo. I. Principales Características Químicas y Sensoriales.* - Olivae, 66, pp. 34–45.

- **Gouveia, J. M. B.; Calvet, N.; Lemonnier, N. (2002)** - *O Azeite em Portugal* – Edições INAPA, pág 208.

- **Guadarrama, M.L. Rodríguez-Méndez, C. Sanz, J.L. Ríos, J.A. de Saja (2001)** - *Electronic nose based on conducting polymers for the quality control of the olive oil aroma Discrimination of quality, variety of olive and geographic origin.* - *Analytica Chimica Acta*, 432, pp. 283–292.

- **Guadarrama; M.L. Rodríguez-Méndez; J.A. (2004)** - *Influence of electrochemical deposition parameters on the performance of poly-3-methyl thiophene and polyaniline sensors for virgin olive oils.* - *Sensors and Actuators B*, 100, pp. 60–64.

- **Gunstone (1996)** - *Fatty Acid and Lipid Chemistry.* - Blackie Academic and Professional, London, pag. 252.

- **Ha, T. J.; Nihei, K. I.; Kubo, I. (2004)** - *Lipoxygenase inhibitory activity of octyl gallate.* - *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(10), pp. 3177–3181.

- **Haddada; Manai; Daoud; Fernandez; Lizzani-Cuvelier; Zarrouk (2007)** - *Profiles of volatile compounds from some monovarietal Tunisian virgin olive oils. Comparison with French PDO.* - *Food Chemistry*, Volume 103, Issue 2, pp. 467-476

- **Hambrecht R, Gielen S. (2005)**- *Hunter-gatherer to sedentary lifestyle.* - *The Lancet* - Vol. 366, Issue (Supplement 1), December 2005, pp. S60-S61.

- **Harborne, J. B.; Dey, M. (1989)** - *Methods in plant phenolics. General procedures and measurement of total phenolics.* - London: Academic Press, pp. 2–9.

- **Henriques, M. F.; Peres, M. C.; Vitorino, M. C., Pinheiro Alves; Simões (2001)** – *Estabilidade relativamente à oxidação de azeites monovarietais da Beira Baixa* – Revista de Ciências Agrárias, Volume XXIV, Números 1 e 2, pp. 193-198.

- **Hermoso, M.; Uceda, M.; Garcia, A.; Morales, B.; Frias, M. L.; Fernández, A. (1991)** - *Elaboracion de aceite de calidad*. - Sevilla, Spain: Consejería de Agricultura y Pesca, Serie Apuntes 5/92, pp.173.

- **Hill, S.E. (1994)** - *A comparison of modern instruments for the analysis of the oxidation stability of fats, oils and foods*. - Inform, **1994**, v.5, n.1, pp. 104-109 In **Denise de F. S. de Souza, Rosemar Antoniassi, Sidinéa Cordeiro de Freitas e Humberto Ribeiro Bizzo** – Estabilidade Oxidativa dos Óleos de Macadâmia e de Pitache. - B.CEPPA, Curitiba, , jan./jun. **2007**, v. 25, n. 1, pp. 141-156.

- **Hoglen, N.C.; Waller, S.C.; Sipes, I.G.; Liebler, D.C. (1997)** - *Reactions of peroxynitrite with gamma-tocopherol*. - Chemical Research in Toxicology, 10 (4), pp. 401–407.

- **Igathinathane, C., Pordesimo, L.O.; Columbus, E.P.; Batchelor, W.D.; Methuku, S.R. (2008)** - *Shape identification and particles size distribution from basic shape parameters using ImageJ* - Computers and electronics in agriculture 63, pp. 168–182.

- Inst. Madrileño de Investig. Agraria y Alimentaria (**IMIDRA**) (**2007**)- *Alteraciones y pérdidas de la calidad en aceituna de mesa y aceite de oliva*. – TDC OLIVA, pag. 37 in <http://www.asajasev.es/>

- Instituto Nacional de Estatística (**INE**) in <http://www.ine.pt/index.htm>, (**2007**)

- **inFoco (2000)**– *O Azeite*. - , Nº8, 27 Julho 2000 Publicação do Gabinete de Planeamento e Política Agro-Alimentar (GPPAA), in <http://www.gppaa.min-agricultura.pt/infoco/index.html>

- International Olive Oil Council (**IOOC**) (**2007**) activities: *World Olive Oil Consumption*, in www.internationaloliveoil.org/.

- **Jelen, M. O.; Zawirska-Wojtasiak; Wasowicz (2000)**- *Headspace Solid-Phase Microextraction Use for the Characterization of Volatile Compounds in Vegetable Oils of Different Sensory Quality*. - J. Agric. Food Chem. 48, pp. 2360-2367.

- **Jiménez, M. S.; Velarte, R.; Castillo, J. R. (2007)** - *Direct determination of phenolic compounds and phospholipids in virgin olive oil by micellar liquid chromatography*. - Food Chemistry 100, pp. 8–14

- **Jonscher; Yates III (1997)** - The Quadrupole Ion Trap Mass Spectrometer—A Small Solution to a Big Challenge – Analytical Biochemistry 244, pp. 1–15.

- **Kalua, D. R. B. Jr.; Prenzler, P. D. (2006)** - *Development of a headspace solid phase microextraction-gas chromatography method for monitoring volatile compounds in extended time-course experiments of olive oil* - Analytica Chimica Acta 556, pp. 407–414.

- **Kalua, M.S.; Allen, D.R.; Bedgood Jr, A.G.; Bishop, P.D.; Prenzler; Robards (2007)** - *Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review*. - Food Chemistry, 100, pp. 273–286.

- **Kanavouras, A.; Kiritsakis, R.J.; Hernandez (2005)** - *Comparative study on volatile analysis of extra virgin olive oil by dynamic headspace and solid phase micro-extraction* - Food Chem., 90, pp. 69-79.

- Kirilova, A.; Lockwood, G.; Math, M., Hoi, C.; Bana, N.; Haider, M.; Brock, K.; Eccles, C.; Dawson, L. A. (2008) – *Three dimensional motion of liver tumors using cine-matic resonance imaging*. - Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys., Vol. 71, No. 4, pp. 1189–1195.

- Kiritsakis, A.; Markakis, P. (1987) - *Olive Oil: A Review*. – Advances in Food Research, vol. 31, pp. 453-483.

- Kiritsakis, A. K. (1998) - *Flavor components of olive oil - a review*. – Journal of the American Oil Chemists Society, 75(6), pp. 673–681.

- Komatsu, Emy; Vaz, J. M. (2004) - *Optimização dos parâmetros de extracção para determinação de multiresíduos em amostras de água empregando microextracção em fase sólida*. - Química Nova, vol.27, nº5, Setembro de 2004, pp. 720-724.

- Kovats, E. (1958) - *Gaz-chromatographische Charakterisierung organishcher Verbindungen. Teil 1: Retentionsindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone*. - Helvetica Chimica Acta, 41, pp. 1915–1932.

- Läubli, M. W.; Bruttel, P. A. (1986) - *Determination of the oxidative stability of fats and oils: comparison between the active oxygen method (AOCS Cd 12-57) and the Rancimat method*. - Journal of the American Oil Chemists' Society, Champaign, v.63, n.6, pp. 792-795.

- Leitão, F.; Potes, M. F.; Calado, M. L.; Almeida, F. J. (1986) – *Descrição de 22 variedades de oliveira cultivadas em Portugal*. – Ministério da Agricultura, Pescas e Alimentação, Direcção Geral de Planeamento Agricultura, Lisboa, pág. 111.

- Leguen De Lacroix, E., (2003) - *The olive oil sector in the European Union*. – European Commission, Directorate-General for Agriculture, pág.6

- **Leffingwell, J. C. (2002)** - *Chirality & Odour Perception*. – in www.leffingwell.com.

- **Li-Chan, E. (1994)** - *Developments in the Detection of Adulteration of Olive Oil*. - Trends in Food Science & Technology, v.5, n.1, pp. 3-11.

- **Lorgeril, MD; Salen, P.; Martin, J.; Monjaud, I.; Delaye, J.; Mamelle, N. (1999)** - *Mediterranean Diet, Traditional Risk Factors, and the Rate of Cardiovascular Complications After Myocardial Infarction*. – Circulation, 99, pp. 779-785.

- **Louris, J. W. A; Ridley, T. Y.; Cooks, R. G. (1989)** - *Injection of ions into a quadrupole ion trap mass spectrometer* - International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes Volume 88, Issues 2-3, 1 April, pp. 97-111.

- **Luaces, A.G. P.; Sanz, C.; (2003)** - *Role of olive seed in the biogenesis of virgin olive oil aroma*.- J. Agric. Food Chem., 51, pp. 4741-4745.

- **Macheix, J. J.; Fleuriet, A.; Billot, J.** - *Fruit phenolics* - Boca Raton, FL: CRC Press, 1990, pag 126.

- **Magalhães, S.C.F.P.; Vaz-Freire, L.; Freitas, A.M. (2007)** – *Comparação de azeites obtidos por produção em olival “tradicional e olival “Super-intensivo”* - Revista de Ciências Agrárias Vol. XXX, N.º 1 Janeiro-Junho, pp. 477-481.

- **Mariani, C.; Fedeli, E.; Grob, K. (1991)**- *Valutazione dei componenti minori liberi ed esterificati nelle sostanze grasse* - Riv. Ital. Sostanze. Grasse, 68, pp. 233-242.

- **Marques, P.A.; Vaz-Freire, L.; Freitas, A.M. (2007)** – *Comparação de alguns compostos do aroma de azeites obtidos por dois métodos de extracção diferentes.* – Revista de Ciências Agrárias Vol. XXX, N.º 1 Janeiro-Junho, pp. 183-186.

- **Marriott, R. S.; Cornwellb, C. (2001)** - *Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils.* - Journal of Chromatography A, 936, pp. 1–22.

- **Merck (2007)** – *Manual Merck de Saúde para a Família.* - in <http://www.manualmerck.net/>

- **Meilgaard, M.; Civille, G. V.; Carr, B. T. (1989)** – *Sensory Evaluation Techniques.* – CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, pag. 282.

- **Mielle, P. (1996)** – *Electronic Nose: Towards the objective instrumental characterization of food aroma.* – Trends in Food Science & Technology, Vol. 7 pp. 432–438.

- **Montedoro, G. F.; Garafolo, L.; Bertuccioli, M. (1986)** – *Factors shaping the quality characteristics of an olive oil.* *Industrie Alimentari*, , 25, pp. 549-555 *in Salvador et al., 2001.*

- **Morales, R.; Aparicio, J.; Rios, J. (1994)** - *Dynamic headspace gas chromatographic method for determining volatiles in virgin olive oil.* - Journal of Chromatography A, Volume 668, Issue 2, 13 May, pp. 455-462.

- **Morales, M. V. A.; Rios, J. J.; Aparicio, R. (1995)** - *Virgin Olive Oil Aroma: Relationship between Volatile Compounds and Sensory Attributes by Chemometrics* - J. Agric. Food Chem., 43(11); pp. 2925-2931.

- **Morales, M.T.; Rios, J.J.; Aparicio, R. (1997)** - *Changes in the volatile composition of virgin olive oil during oxidation: flavors and off-flavors.* - J. Agri. Food Chem., 45, pp. 2666-2673.

- **Morales, M. T.; Luna, G.; Aparício, R. (2000)** - *Sensory and chemical evaluation of winey-vinegary defect in virgin olive oils*. - Eur. Food Res. Technol., 211, pp. 222-228.

- **Morales, M. T.; Luna, G.; Aparício, R. (2005)** - *Comparative study of virgin oil sensory defects*. - Food Chemistry, 91, pp. 293–301

- **Olias, J. M.; Perez, A. G.; Rios, J. J.; Sanz, L. C. (1993)**- *Aroma of virgin olive oil, biogenesis of the green odor notes*. - Journal of Agricultural and Food Chemistry, 41(12), pp. 2368–2373.

- **Papadopoulos, G.; Boskou, D. (1999)** - *Antioxidant effect of natural phenols on olive oil*. - JAOCS, 68, pp. 669–671.

- **Pawliszyn, J. B.; Belardi, R.P. (1989)** - *The Application of Chemically Modified Fused Silica Fibers in the Extraction of Organics from Water Matrix Samples and their Rapid Transfer to Capillary Columns*. - Water Pollution Research Journal of Canada, 24, 1, pp. 179-191.

- **Porretta (2000)** - *Analisi sensoriale & Consumer science*. - Chiriotti Editori, Pinerolo, pag. 432.

- **Pool, M.; Thiemann, J.; Bar-Or, B.; Fournier, A. E. (2008)** - *NeuriteTracer: A novel ImageJ plugin for automated quantification of neurite outgrowth* - Journal of Neuroscience Methods 168, pp. 134–139.

- **Poole, C. F.; Schuette, S. A. (1984)**– *Contemporary practice of cromatography* – Elsevier, pág. 212.

- **Prenzler, P. D.; Bedgood, D. R.; Bishop, A. G.; Robards, K. (2002)** - *Volatile profile of olive oils*. - *Advances in Horticultural Science*, 16 (3–4), pp. 246–252.

- **Projecto AGRO 266 (2005)** – *A cobertura vegetal do solo dos olivais em alternativa às mobilizações tradicionais. Avaliação comparativa das práticas e dos seus efeitos. Relatório final do Projecto AGRO 266*. - Universidade de Évora, Évora, pág. 73.

- **Ranalli, A.; Serraiocco, A. (1996)** - *Quantitative and qualitative effects of a pectolytic enzyme in olive oil production*. - *Grasas y Aceites*, 47(4), pp. 227–236.

- **Ranalli, A.; de Mattia, G.; Ferrante, M. L.; Giansante, L. (1997)** - *Incidence of olive cultivation area on the analytical characteristics of the oil. Note 1*. - *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 74, pp. 501–508.

- **Ranalli, A. M.; Patumib, M.; Fontanazzab, G. (2000)** - *The compositional quality and sensory properties of virgin olive oil from a new olive cultivar D I-77*. - *Food Chemistry*, 69, pp. 37-46

- **Ranalli, A.; Pollastri, L.; Contento, S.; Di Loreto, G.; Iannucci, E.; Lucera, L.; Russi, F. (2002)** - *Sterol and alcohol components of seeds, pulp, and whole olive fruit oils. Their use to characterise olive fruit variety by multivariate*. - *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, pp. 854–859.

- **Regulamento (CEE) N.º 2568/91**, Jornal Oficial n.º L 349 de 18 de Dezembro de 1991 pp. 16 –36

- **Regulamento (CE) n. 1107/1996** da Comissão, de 12 de Junho de 1996, *(Azeite de Moura) (DOP)*.

- **Regulamento (CE) n.º 1019/2002** da Comissão, de 13 de Junho de 2002. *Relativo às normas de comercialização do azeite*. - Jornal Oficial nº L 155 de 14/06/2002, pp. 0027 – 0031

- **Regulamento (CE) n.º 1989/2003** da Comissão de 6 de Novembro de 2003 que altera o Regulamento (CEE) n.º 2568/91 *relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como aos métodos de análise relacionados*. - Jornal Oficial nº L 295 de 06/11/2003, pp. 57 - 77

- **Regulamento (CE) n. 708/2005** da Comissão, de 10 de Maio de 2005, *que altera determinados elementos do caderno de especificações e obrigações de uma denominação de origem inscrita no anexo do Regulamento (CE) n. 1107/96 (Azeites do Norte Alentejano) (DOP)*, Jornal Oficial nº L 119 de 11/05/2005 pp. 0003 – 0007.

- **Regulamento (CE) n. 510/2006** da Comissão, de 1 de Junho de 2006, *Pedido de registo nos termos do artigo 5.º e do n.º 2 do artigo 17 (Azeites do Alentejo Interior) (DOP)*, Jornal Oficial nº C 128 de 1/06/2006 pp. 0015 – 0017.

- **Reiners, W. Grosch (1998)** – *Odorants of virgin olive oils with different flavor profiles*. – J. Agric. Food Chem., 46, pp. 2754-2763.

- **Ridolfi, M.; Patume, M.; Fontanazza, G. (2002)**- *Characterization of the lipoxygenases in some cultivars and determination of their role in volatile compounds formation*. - J. Agric. Food Chem., 50, pp. 835-839.

- **Rivera del Alamo; Fregapane, G.; Aranda, F.; Gomez-Alonso, S.; Salvador, M.D.** - *Sterol and alcohol composition of Cornicabra virgin olive oil: the campesterol content exceeds the upper limit of 4% established by EU regulations*. - Food Chemistry 84, 2004, pp. 533–537.

- **Ribeiro, A. M. Costa Freitas, J. M. Gouveia and M. D. R. Gomes da Silva** - The use of headspace solid phase microextraction for the analysis of olive oil volatiles. *Submitted to Journal of Chromatography* **2008**.

- **Roberts; Pollien; Milo (2000)** - *Solid-Phase Microextraction Method Development for Headspace Analysis of Volatile Flavor Compounds*. - J. Agric. Food Chem., 48 (6), pp. 2430 -2437.

- **Romani, A.; Mulinacci, N.; Pinelli, P.; Vincieri, F. F.; Cimato, A. (1999)** - *Polyphenolic content in five Tuscany cultivars of Olea europaea L.* - Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, pp. 964– 967.

- **Rosales, G. (1989)** - *Determinación de la estabilidad oxidativa de aceite de oliva vírgenes: comparación entre el método del oxígeno activo (A.O.M.) y el método Rancimat*. - Grasas y Aceites, v. 40, n.1, pp. 1-5.

- **Ruiz, L. F.; Rodríguez, A. G. O.; Fernandez, M. H.; Marquez, A. J.; Pozo, M. P.; Bernardino, J. M.; Ayuso, M. T.; Ojeda, M. U. (1991)** – *Analistas de laboratorio de almazara*. - Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Apuntes, n.º6/Sevilla, pág. 111.

- **Ryan, D.; Robards, K. (1998)** - *Phenolic compounds in olives*. - Analyst, 123, pp. 31R–44R.

- **Sabel, N.; Johansson, C.; Kuhnisch, J.; Robertson, A.; Steiniger, F.; Norén, J. G.; Klingberg, G.; Nietzsche, S. (2008)** - *Neonatal lines in the enamel of primary teeth—A morphological and scanning electron microscopic investigation*. - Archives of oral biology 53, pp. 954 – 963.

- **Sagradas Escrituras, Velho Testamento** - Êxodo 30:31.

- **Sagradas Escrituras**, Velho Testamento - Levítico 7:12.

- **Salvador**, M. D.; Aranda, F., Fregapane, G. (2001) - *Influence of fruit ripening on "Cornibraca" virgin olive oil. A study of four successive crop seasons.* - Food Chemistry, 73, pp. 45-53.

- **Salvador**; Aranda; Gómez-Alonso; Fregapane (2003) - *Influence of extraction system, production year and area on Cornicabra virgin olive oil: a study of five crop seasons.* - Food Chemistry, , 80, pp. 359–366

- **Sanchez**, J. J.; De Miguel, C.; Marín, J. (1997) - *La calidad del aceite de oliva procedente de variedades cultivadas en Extremadura en relación con la composición y maduración de la aceituna.* - Olivae, 75, pp. 31–36.

- **Sansoucy**, X. Alibes; Ph. Berge; F. Martilotti; A. Nefzaoui; P. Zoïopoulos (1985)- *Olive by-products for animal feed.* – FAO of the United Nations, Rome, pág. 46

- **Saramago**, Alfredo (1997) - *Para uma história da alimentação no Alentejo* - Assírio e Alvim, , pág. 280.

- **Schnürer**, J.; Olsson, J.; Börjesson, T. - *Fungal volatiles as indicators of food and feeds spoilage.* - Fungal Genetics and Biology, 1999, 27, pp. 209–217.

- **Schuring**, Volker (2001) – *Separation of enantiomers by gas chromatography.* – Journal of Chromatography A, 906, pp. 275-299.

- **Servili**, M.; Selvaggini, R.; Esposto, S. (2003) - *Volatile compounds and phenolics composition of virgin olive oil: optimization of temperature and time exposure of olive pastes to air contact during the mechanical extraction process.* – J. Agric. Food Chem. 51, pp. 7980-7988.

- **Simopoulos, A. P. (2002)** - *The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids*. - *Dossier: Polyunsaturated fatty acids in biology and diseases*. - Biomedecine & Pharmacotherapy, Volume 56, Issue 8, October 2002, pp. 365-379.

- **Singhal, P.R. K.; Rege, D.V. (1997)** - Fruit and vegetable products. - In: S. Singhal, P.R. Kulkarni and D.V. Rege, Editors, *Handbook of indices of food quality and authenticity*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, pp. 79–130.

- **Shirey, R. E. (2000)** – *Optimization of Extraction Conditions and Fiber Selection for Semivolatile Analytes Using Solid-Phase Microextraction*. – Journal of Chromatographic Science, 38, pp. 279-288.

- **Soares, L.M. (2001)** - *Como obter resultados confiáveis em cromatografia*. - Boletim técnico nº9, Ver.Inst.Adolfo Lutz, 60 (1), pp.79-84.

- **Soler-Rivas, C.; Espín, J. C.; Wichers, H. J. (2000)** - *Oleuropein and related compounds*. - Journal of the Science of Food and Agriculture, 80, pp. 1013–1023.

- **Stefanoudaki, E.; Kotsifaki, F.; Koutsaftakis, A. (1999)** - *Classification of virgin olive oils of the two major Cretan cultivars based on their fatty acid composition*. - Journal of the American Oil Chemists Society, 76(5), pp. 623–626.

- **Stella, R.; Serra, G.; De Rossi, D.; Barisci, J.N.; Wallace, G.G. (2000)** - *Characterisation of olive oil by an electronic nose based on conducting polymer sensors*. - Sensors and Actuators, 63 (1-2), pp. 1-9.

- **Supelco Bulletin 928 (2003)** – in www.sigma-aldrich.com, pág.12.

- **Supelco (2007)** - *GC Column Selection Guide* - in www.sigma-aldrich.com, pág. 24

- **Surový, P.; Ribeiro, N. A; Oliveira, A. C.; Scheer, F. (2004)** - *Discrimination of vegetation from the background in high resolution colour remote sensed imagery.* – Journal of Forest Science, 50, (4), pp. 161–170.

- **Taurino, A.; Capone, S.; Distante, C.; Epifani, M.; Rella, R.; Siciliano; P. (2002)** - *Recognition of olive oils by means of an integrated sol–gel SnO₂ Electronic Nose* - Thin Solid Films, Volume 418, Issue 1, 1 October 2002, pp. 59-65

- **Temime, E. C.; Cioni, P. L.; Daoud, D.; Zarrouk, M. (2006)** - *Volatile compounds from Chétoui olive oil and variations induced by growing area-* - Food Chemistry 99, pp. 315–325.

- **Torres, D.M. M. (2006)** - *The effects of genotype and extraction methods on chemical composition of virgin olive oils from Traslasierra Valley (Córdoba, Argentina)* - Food Chemistry, 96, pp. 507–511

- **Traber, M.G.; Packer, L. (1995)** - *Vitamin E: beyond antioxidant function.* - American Journal of Clinical Nutrition, 62, pp. 1501S-1509S.

- **Tura, P.D.; Prenzler, D.R.; Bedgood, M.; Antolovich, K.; Robards (2004)** - *Varietal and processing effects on the volatile profile of Australian olive oils.* - Food Chem. 84, pp. 341-349.

- **Tressl, R.; Drawert, F. (1973)** - *Biogenesis of banana volatiles.* - Journal of Agricultural and Food Chemistry, 21(4), pp. 560–565.

- **Valente, P.; Luiz, A.; Fábio, A. (2000)** - *Microextração por Fase Sólida.* - Química Nova, vol.23, nº4, , Julho de 2000, pp. 523-530.

- **Vas, Gy.; Blechschmidt, I.; Kovács, T.; Vékey, K. (1998)** - *Monitoring wine fermentation process by SPME head-space sampling fast G C analysis.* – 20th International Symposium on Capillary Chromatography, pág. 9.

- **Vaz Freire, L. M. T.; Freitas, A. M. C.; Relva, A. M. (2001)** - *Optimization of solid phase microextraction analysis of aroma compounds in a portuguese muscatel wine must.* - Journal of Microcolumn Separations, 13(6), pp. 236-242.

- **Vaz-Freire, L. M. P. T. (2003)** – *Comparação de dois métodos, SPME E SDE, para a análise quantitativa de compostos do aroma. Aplicação do SPME associado à CG-EM na análise de vinhos monocasta.* – Tese de Mestrado em Tecnologia Alimentar e Qualidade, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, pág. 145

- **Vaz-Freire, L.; Gouveia, J. M. J.; Freitas, A. M. C. (2008)** - *Analytical characteristics of olive oils produced by two different extraction techniques, in the Portuguese olive variety 'Galega Vulgar'* - Grasas y Aceites, 59 (3), Júlio-Septiembre, pp. 260-266.

- **Vaz-Freire, L. T.; Silva, M.D.R. ; Freitas; A. M.** - *Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography for Fingerprint Pattern Recognition in Olive oils produced by two different techniques in Portuguese olive varieties Galega Vulgar, Cobrançosa e Carrasquenha.* - Submitted to **Journal of Chromatography A**

- **Vaz-Freire, L. T.; Gouveia, J. ; Freitas, A. M. C.** - *Sensorial analysis and electronic aroma detection to compare olive oils produced by different extraction methods.* - Submitted to **The Journal of Food Composition and Analysis**

- **Venkateshwarlu, G.; Let, M. B.; Meyer, A. S.; Jacobsen, C. (2004)** - *Modeling the sensory impact of defined combinations of volatile lipid oxidation products on fishy and metallic off-flavors.* - Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(6), pp. 1635–1641.

- **Vichi**; Castellote; Pizzale; Conte; Buxaderas, López-Tamames (2003) - *Analysis of virgin olive oil volatile compounds by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography with mass spectrometric and flame ionization detection.* - J. Chromatogr. A, 983, pp. 19-33.

- **Vichi**, L. P.; Conte; Buxaderas; López-Tamames (2003) - *Solid-Phase Microextraction in the Analysis of Virgin Olive Oil Volatile Fraction: Characterisation of Virgin Olive Oils from Two Distinct Geographical Areas of Northern-Italy.* - J. Agric. Food Chem., 51(22): pp. 6572-6577.

- **Vinha**; Ferreres; Silva; Valentão; Gonçalves; Pereira; Oliveira; Seabra; Andrade (2005) - *Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (Olea europaea L.): Influences of cultivar and geographical origin.* - Food Chemistry, 89, pp. 561–568

- **Wilkes**; Conte; Kim; Holcomb; Sutherland; Miller (2000)- *Sample preparation for the analysis of flavors and off-flavors in foods.* - Journal of Chromatography A, 880, Issues 1-2, 2 June 2000, pp. 3-33.

- **Woebbecke**; Meyer; Von Bargaen; Mortensen (1992) - *Plant species identification, size and enumeration using machine vision techniques on near-binary images.* - SPIE Optics Agric. Forestry 1836, pp. 208–219.

- **Zhang**, Q.; York, R. (2007) - *Electric Nose (Sensor Based Odour Analysis System) for odour identification and measurement.* - Retrieved from 2007-09: in www.gov.mb.ca/agriculture/index.html.

ANEXOS

Anexo I

Registo das Condições meteorológicas

Quadros 6.1

Valores de Temperaturas no Posto Meteorológico da Herdade do Reguengo, Elvas.

TEMPERATURAS MÁXIMAS ABSOLUTAS												
ANO	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
2000	17,5	22	27	23	35	38	41,5	41	38	30,5	21,5	18
2001	17,5	20,5	23,5	26	38,5	39	39	40	35,5	27,5	22,5	16,5
2002	17,5	20,5	27,5	30,5	33	38,5	40	40	33	28	24	18,5
2003	22	17,5	24,5	24,5	35,5	39,5	43	44,5	36,5	28	21	16
2004	19	20,5	23,5	30	32,5	42,5	42,5	38	36,5	35	21,5	18
TEMPERATURAS MÍNIMAS ABSOLUTAS												
2000	1	3,5	5,5	6,5	9,5	8,5	12,5	11,5	9,5	7	3	1
2001	1,2	2	5,5	5	5	11,5	12,5	11	7	5	-5	-5,5
2002	-0,1	-1,5	5,5	7	11	10,5	17	15	11	8,5	2,5	3,5
2003	-2	0	4,5	6	9,5	11	11,5	10,5	11,5	3,5	6,5	0,5
2004	-1	3	0,5	5,5	8,5	16,5	14	15,5	12,5	7	1,5	-0,5
TEMPERATURAS MÉDIAS												
2000	9,3	13,5	15,8	14,2	18,8	23,7	25,4	25,1	22,5	17,0	11,7	10,7
2001	10,1	11,0	13,9	15,1	18,3	24,2	24,3	24,6	20,6	15,6	8,2	6,7
2002	8,7	9,6	14,9	16,3	19,3	24,9	27,8	26,0	22,2	18,6	13,9	11,5
2003	9,8	10,1	14,5	14,9	21,1	24,8	25,2	28,1	23,7	17,4	13,4	9,7
2004	10,4	11,0	12,6	15,2	18,8	27,8	28,3	26,0	24,1	18,9	12,6	8,9
AMPLITUDE TÉRMICA ABSOLUTA												
2000	16,5	18,5	21,5	16,5	25,5	29,5	29	29,5	28,5	23,5	18,5	17
2001	16,3	18,5	18	21	33,5	27,5	26,5	29	28,5	25	27,5	22
2002	17,6	22	22	23,5	22	28	23	25	22	20	21,5	15
2003	24	17,5	20	18,5	26	28,5	31,5	34	25	24,5	14,5	15,5
2004	20	17,5	23	24,5	24	26	28,5	22,5	24	28	20	18,5

Quadros 6.2

Valores de Pluviosidade e Humidade no Posto Meteorológico da Herdade do Reguengo, Elvas.

PLUVIOSIDADE												
ANO	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
2000	12,4	5,5	18,4	158,3	77,8	5,7	3,1	0	15	27,1	113,6	277
2001	150,4	119	154,1	0,4	45,3	11,6	2,7	0	27,3	102,5	40,4	16,7
2002	86,2	8,5	99,3	49,1	20,9	2,5	0,3	7,4	43,9	46,6	95,2	126
2003	70,2	71,1	52,9	75,3	6,9	0,5	0	0,4	2,3	186,3	125,1	112
2004	56,2	64	35,5	25	32,3	5,3	0	7,3	1,2	169	26,4	21,7
Nº DE DIAS COM PLUVIOSIDADE												
2000	6	2	5	16	12	1	2	0	3	6	15	20
2001	21	10	16	2	11	1	1	0	4	12	5	5
2002	11	3	15	9	7	2	1	1	10	12	13	16
2003	15	12	9	15	2	2	0	1	1	15	12	11
2004	8	8	7	5	9	1	0	4	1	11	5	4
PLUVIOSIDADE MÁX. EM 1 DIA												
2000	4,2	4,8	8,2	30,4	13,4	5,7	2,6	0	11,4	10,4	43,3	36,4
2001	33,4	54,8	32,4	0,2	12,4	11,6	2,7	0	9,3	35,6	26,2	7,4
2002	29,6	7,4	23,7	15,4	12,6	2,3	0,3	7,4	15,3	13,4	22,6	19,4
2003	25,4	19,4	13,4	15,7	4,3	0,4	0	0,4	2,3	41,4	25,4	23,6
2004	18,6	15,6	12,4	15,6	16,4	5,3	0	3,6	1,2	44,6	17,6	15,3
HUMIDADE RELATIVA												
2000	87,23	84,18	73,81	82,90	85,13	68,57	75,73	77,58	77,73	82,65	87,03	88,32
2001	88,16	85,29	86,16	78,17	79,94	68,47	80,26	81,32	82,97	89,10	81,50	86,84
2002	86,39	82,36	83,10	80,45	74,77	72,53	66,97	72,39	82,00	87,71	85,93	86,16
2003	83,94	83,61	83,58	85,80	77,03	83,37	80,97	79,16	82,27	87,23	85,20	87,13
2004	87,06	88,79	83,52	83,00	82,84	73,73	74,55	80,04	81,23	86,10	86,33	82,93

Nota: Relativamente a Moura – não existem dados detalhados semelhantes aos apresentados para Elvas.

Anexo II

Análise estatística para as azeitonas

Quadro 6.3

Análise descritiva para os parâmetros analisados para os anos de 2002, 2003 e 2004 para as azeitonas.

		Valido N	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
Carrasquenha	Peso em g de 100 azeitonas	9	414,6	395,9	437,9	13,2
	Índice de Maturação	9	2,6	2,4	2,8	0,1
	Mosca em %	9	8,7	1,0	24,8	11,6
	Mosca com formação de galeria em %	9	5,8	1,0	15,8	7,2
	Gafa em %	9	5,3	2,9	9,0	2,7
	Humidade %	9	47,9	42,2	51,2	2,8
	Gordura-RMN (m.o.) %	9	22,3	20,4	24,4	1,3
	% de Gordura na Matéria Seca	9	42,5	40,8	44,5	1,2
Cobrançosa	Peso em g de 100 azeitonas	9	483,4	456,0	503,3	15,3
	Índice de Maturação	9	4,3	4,1	4,6	0,2
	Mosca em %	9	18,3	9,8	31,8	9,7
	Mosca com formação de galeria em %	9	4,7	2,9	8,2	2,5
	Gafa em %	9	6,3	2,9	13,3	5,0
	Humidade %	9	55,5	52,8	58,8	1,9
	Gordura-RMN (m.o.) %	9	16,4	14,4	19,1	1,8
	% de Gordura na Matéria Seca	9	36,7	33,8	41,6	3,0
Galega Vulgar	Peso em g de 100 azeitonas	9	194,6	185,3	203,1	5,5
	Índice de Maturação	9	4,6	4,4	4,8	0,1
	Mosca em %	9	6,4	1,0	10,5	4,2
	Mosca com formação de galeria em %	9	1,5	0,0	2,3	1,1
	Gafa em %	9	25,4	5,9	61,7	26,2
	Humidade %	9	45,4	42,8	47,5	1,5
	Gordura-RMN (m.o.) %	9	24,4	21,3	28,0	2,4
	% de Gordura na Matéria Seca	9	44,6	39,4	49,8	3,7

Quadro 6.4

Teste a normalidade para os parâmetros analisados para as azeitonas.

	Variedade	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Peso(g)/ 100 azeitonas	Carrasquenha	0,309	3	.	0,901	3	0,387
	Cobrançosa	0,184	3	.	0,999	3	0,930
	Galega Vulgar	0,264	3	.	0,955	3	0,590
Índice Maturação	Carrasquenha	0,264	3	.	0,955	3	0,590
	Cobrançosa	0,176	3	.	1,000	3	0,984
	Galega Vulgar	0,204	3	.	0,993	3	0,844
% Frutos com picada de mosca	Carrasquenha	0,385	3	.	0,750	3	0,000
	Cobrançosa	0,321	3	.	0,881	3	0,328
	Galega Vulgar	0,306	3	.	0,904	3	0,398
% Frutos com formação de galeria pela mosca	Carrasquenha	0,380	3	.	0,763	3	0,028
	Cobrançosa	0,385	3	.	0,750	3	0,000
	Galega Vulgar	0,385	3	.	0,750	3	0,000
% frutos gafa	Carrasquenha	0,326	3	.	0,874	3	0,306
	Cobrançosa	0,371	3	.	0,785	3	0,079
	Galega Vulgar	0,362	3	.	0,805	3	0,126
Humidade %	Carrasquenha	0,342	3	.	0,845	3	0,227
	Cobrançosa	0,303	3	.	0,908	3	0,413
	Galega Vulgar	0,333	3	.	0,862	3	0,273
Gordura-RMN (m.o.) %	Carrasquenha	0,219	3	.	0,987	3	0,783
	Cobrançosa	0,291	3	.	0,925	3	0,471
	Galega Vulgar	0,218	3	.	0,988	3	0,788
% de Gordura na Matéria Seca	Carrasquenha	0,348	3	.	0,834	3	0,199
	Cobrançosa	0,374	3	.	0,778	3	0,063
	Galega Vulgar	0,186	3	.	0,998	3	0,922

(a) Lilliefors Significance Correction

Se sig.<0,05 a distribuição das amostras difere significativamente de uma Normal

Quadro 6.5

Teste de Levene (homogeneidade de variâncias).

	F	df1	df2	Sig.
Peso(g)/ 100 azeitonas	3,053	2	6	0,122
Índice Maturação	2,718	2	6	0,144
% frutos infestados mosca	2,249	2	6	0,187
% frutos deposição mosca	8,227	2	6	0,019
% frutos gafa	10,730	2	6	0,010
Humidade %	3,454	2	6	0,100
Gordura-RMN (m.o.) %	0,590	2	6	0,583
% de Gordura na Matéria Seca	1,930	2	6	0,225

Se sig.<0,05 as variâncias dos grupos de amostras são diferentes

Quadro 6.6
Teste de comparação de médias Scheffe.
Probabilidade para o teste Post Hoc
Erro: Entre MS = 80,718, gl = 18

	Nº da Célula	ano	variedade	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}
Peso da amostra	1	2002	Carrasquenha		0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,441	0,000	0,000
	2	2002	Cobrançosa	0,000		0,000	0,000	0,241	0,000	0,000	1,000	0,000
	3	2002	Galega Vulgar	0,000	0,000		0,000	0,000	0,995	0,000	0,000	1,000
	4	2003	Carrasquenha	1,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,729	0,000	0,000
	5	2003	Cobrançosa	0,000	0,241	0,000	0,000		0,000	0,010	0,291	0,000
	6	2003	Galega Vulgar	0,000	0,000	0,995	0,000	0,000		0,000	0,000	1,000
	7	2004	Carrasquenha	0,441	0,000	0,000	0,729	0,010	0,000		0,000	0,000
	8	2004	Cobrançosa	0,000	1,000	0,000	0,000	0,291	0,000	0,000		0,000
	9	2004	Galega Vulgar	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	
		ano	variedade	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}
Índice de maturação	1	2002	Carrasquenha		0,000	0,000	0,536	0,000	0,000	0,123	0,000	0,000
	2	2002	Cobrançosa	0,000		0,982	0,000	0,124	0,772	0,000	0,933	1,000
	3	2002	Galega Vulgar	0,000	0,982		0,000	0,014	0,999	0,000	0,387	0,994
	4	2003	Carrasquenha	0,536	0,000	0,000		0,000	0,000	0,990	0,000	0,000
	5	2003	Cobrançosa	0,000	0,124	0,014	0,000		0,003	0,000	0,754	0,088
	6	2003	Galega Vulgar	0,000	0,772	0,999	0,000	0,003		0,000	0,132	0,857
	7	2004	Carrasquenha	0,123	0,000	0,000	0,990	0,000	0,000		0,000	0,000
	8	2004	Cobrançosa	0,000	0,933	0,387	0,000	0,754	0,132	0,000		0,874
	9	2004	Galega Vulgar	0,000	1,000	0,994	0,000	0,088	0,857	0,000	0,874	
		ano	variedade	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}
Mosca em %	1	2002	Carrasquenha		0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000
	2	2002	Cobrançosa	0,000		0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
	3	2002	Galega Vulgar	0,000	0,002		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	4	2003	Carrasquenha	1,000	0,000	0,000		0,000	1,000	0,000	0,000	0,000
	5	2003	Cobrançosa	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000
	6	2003	Galega Vulgar	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000		0,000	0,000	0,000
	7	2004	Carrasquenha	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000
	8	2004	Cobrançosa	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000
	9	2004	Galega Vulgar	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
		ano	variedade	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}
Gafa	1	2002	Carrasquenha		0,714	0,000	0,730	0,714	0,036	0,000	0,000	0,000
	2	2002	Cobrançosa	0,714		0,000	1,000	1,000	0,001	0,000	0,000	0,000
	3	2002	Galega Vulgar	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000	0,486	0,001	0,000
	4	2003	Carrasquenha	0,730	1,000	0,000		1,000	0,001	0,000	0,000	0,000
	5	2003	Cobrançosa	0,714	1,000	0,000	1,000		0,001	0,000	0,000	0,000
	6	2003	Galega Vulgar	0,036	0,001	0,000	0,001	0,001		0,002	0,000	0,000
	7	2004	Carrasquenha	0,000	0,000	0,486	0,000	0,000	0,002		0,000	0,000
	8	2004	Cobrançosa	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000
	9	2004	Galega Vulgar	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
		ano	variedade	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}
% de Humidade	1	2002	Carrasquenha		0,054	0,043	1,000	0,000	0,677	0,116	0,018	0,518
	2	2002	Cobrançosa	0,054		0,000	0,169	0,437	0,001	0,000	1,000	0,001
	3	2002	Galega Vulgar	0,043	0,000		0,012	0,000	0,768	1,000	0,000	0,889
	4	2003	Carrasquenha	1,000	0,169	0,012		0,001	0,334	0,035	0,064	0,220
	5	2003	Cobrançosa	0,000	0,437	0,000	0,001		0,000	0,000	0,741	0,000
	6	2003	Galega Vulgar	0,677	0,001	0,768	0,334	0,000		0,957	0,000	1,000
	7	2004	Carrasquenha	0,116	0,000	1,000	0,035	0,000	0,957		0,000	0,990

Quadro 6.6 (conclusão)												
Teste de comparação de médias Scheffe.												
Probabilidade para o teste Post Hoc												
Erro: Entre MS = 80,718, gl = 18												
	Nº da Célula	ano	variedade	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}
	8	2004	Cobrançosa	0,018	1,000	0,000	0,064	0,741	0,000	0,000		0,000
	9	2004	Galega Vulgar	0,518	0,001	0,889	0,220	0,000	1,000	0,990	0,000	
		ano	variedade	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}
% de Gordura	1	2002	Carrasquenha		0,000	0,000	0,548	0,000	0,057	0,111	0,000	1,000
	2	2002	Cobrançosa	0,000		0,000	0,012	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000
	3	2002	Galega Vulgar	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	4	2003	Carrasquenha	0,548	0,012	0,000		0,000	0,001	0,001	0,000	0,826
	5	2003	Cobrançosa	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,742	0,000
	6	2003	Galega Vulgar	0,057	0,000	0,000	0,001	0,000		1,000	0,000	0,021
	7	2004	Carrasquenha	0,111	0,000	0,000	0,001	0,000	1,000		0,000	0,042
	8	2004	Cobrançosa	0,000	0,001	0,000	0,000	0,742	0,000	0,000		0,000
	9	2004	Galega Vulgar	1,000	0,000	0,000	0,826	0,000	0,021	0,042	0,000	
% de Gordura na matéria seca		ano	variedade	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}
	1	2002	Carrasquenha		0,252	0,003	0,884	0,000	0,942	0,938	0,000	0,206
	2	2002	Cobrançosa	0,252		0,000	0,962	0,001	0,021	0,922	0,001	1,000
	3	2002	Galega Vulgar	0,003	0,000		0,000	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000
	4	2003	Carrasquenha	0,884	0,962	0,000		0,000	0,216	1,000	0,000	0,935
	5	2003	Cobrançosa	0,000	0,001	0,000	0,000		0,000	0,000	1,000	0,001
	6	2003	Galega Vulgar	0,942	0,021	0,050	0,216	0,000		0,283	0,000	0,016
	7	2004	Carrasquenha	0,938	0,922	0,000	1,000	0,000	0,283		0,000	0,881
	8	2004	Cobrançosa	0,000	0,001	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000		0,001
	9	2004	Galega Vulgar	0,206	1,000	0,000	0,935	0,001	0,016	0,881	0,001	

Quadro 6.7
Teste de comparação de médias Scheffe.

Teste Estatística(b,c)	Variedade		
		% frutos deposição mosca	% frutos gafa
Chi-Square		2,802	2,489
df		2	2
Asymp. Sig.		0,246	0,288
Monte Carlo Sig.		0,292	0,336
	Sig.		
	95% Confidence Interval		
	Lower Bound	0,283	0,327
	Upper Bound	0,301	0,345

a Based on 10000 sampled tables with starting seed 2000000.

b Kruskal Wallis Test

c Grouping Variable: variedade

Se sig.<0,05 existem diferenças entre grupos

Quadro 6.8
 Teste de comparação de médias Scheffe, análise em função das Variedades

Peso(g)/ 100 azeitonas				
	Variedades	N	Subset for alpha = .05	
			Carrasquenha	Cobrançosa
Scheffe(a)	Galega Vulgar	3	194,5767	
	Carrasquenha	3		414,5667
	Cobrançosa	3		
	Sig.		1	1

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Índice Maturação				
	variedade	N	Subset for alpha = .05	
			Carrasquenha	Cobrançosa
Scheffe(a)	Carrasquenha	3	2,644631	
	Cobrançosa	3		4,366935
	Galega Vulgar	3		4,592677
	Sig.		1	0,812965

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Humidade %				
	variedade	N	Subset for alpha = .05	
			Carrasquenha	Cobrançosa
Scheffe(a)	Galega Vulgar	3	0,454267	
	Carrasquenha	3	0,474433	
	Cobrançosa	3		0,554633
	Sig.		0,623509	1

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Gordura-RMN (m.o.) %				
	variedade	N	Subset for alpha = .05	
			Carrasquenha	Cobrançosa
Scheffe(a)	Cobrançosa	3	0,163833	
	Carrasquenha	3		0,2231
	Galega Vulgar	3		0,2439
	Sig.		1	0,526371

Anexo III

Registo das temperaturas da batedura.

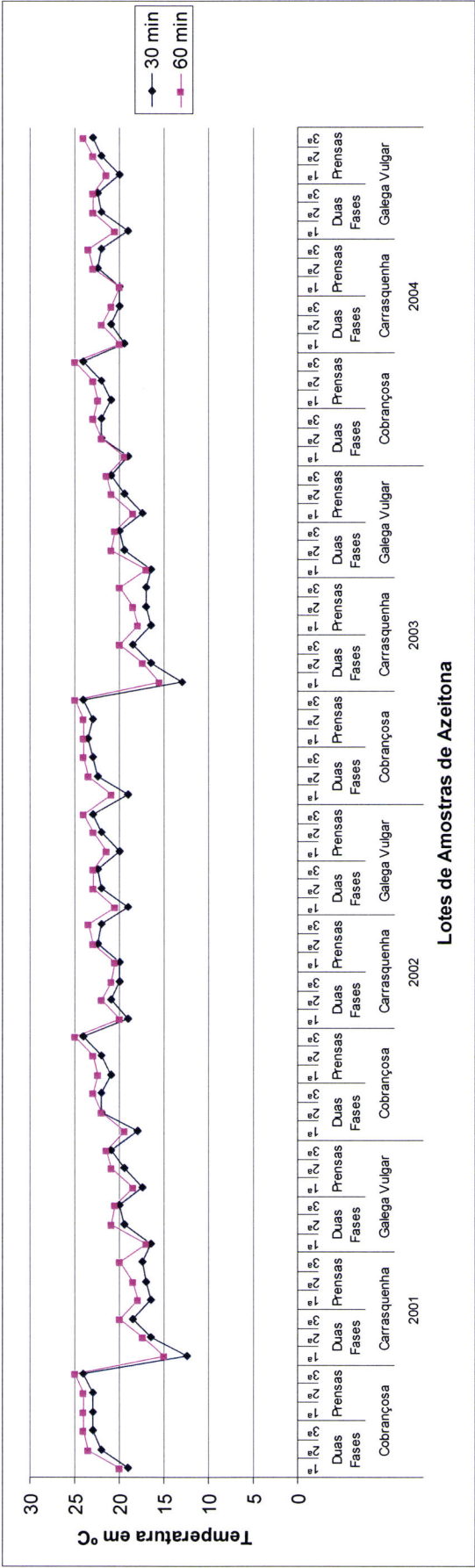


Figura 6.1
Registo da batadura para os vários anos para as várias amostras.

Anexo IV

Folha de Prova para a Análise Sensorial

Folha de registo da prova efectuada na Análise Sensorial (Regulamento (CEE)
N.º 2568/91.

Notas
Olfacto-gustativo-tácteis

Atributo	Intensidade da percepção ⁽¹⁾					
	0	1	2	3	4	5
Frutado de azeitona (madura ou verde) ⁽¹⁾						
A maçã						
Outra(s) fruta(s) madura(s)						
Verde (folha, erva)						
Amargo						
Picante						
Doce						
Outro(s) atributo(s) tolerável(is)						
No último caso qual ou quais?						
.....						
Acre/avinhado/avinagrado/ácido						
Espesso						
Metálico						
A mofo/a humidade						
A borra						
A tuiha						
A ranço						
Outro(s) atributo(s) intolerável(is)						
No último caso qual ou quais?						
.....						

⁽¹⁾ Risque a menção inútil de percepção.

⁽²⁾ 0 = Ausência total ⁽¹⁾

1 = Quase imperceptível

2 = Ligeiro

3 = Médio

4 = Grande

5 = Extremo

⁽¹⁾ É obrigatória a indicação da ausência de percepção sensorial assinalando uma «X» na casa correspondente.

Tabela de pontuação

Defeitos	Características	Avaliação global-pontos
Nenhum	Frutado de azeitona	9
	Frutado de azeitona e outros frutos sãos	8
		7
Ligeiros ou quase imperceptíveis	Frutado apagado de qualquer tipo	6
Perceptíveis	Frutado algo defeituoso com cheiros e sabores anómalos	5
Perceptíveis, limite de aceitabilidade	Frutado nitidamente defeituoso, cheiro e sabor desagradável	4
Grande ou graves nitidamente perceptíveis	Cheiros e sabores totalmente inadmissíveis para consumo	3
		2
		1

Observações

.....

Nome do provador

.....

Código da amostra

Data

Anexo V

“Nariz electrónico”, sensores.

Quadro 6.9

AlphaMos – Sensores – Composição e Aplicação (adaptado de AphaMos, 2002)

Aplicações	Gás	Descrição do Aroma	Tipos de sensores/Composição		
			Tipo P*	Tipo T**	Tipo LY***
Culinária Petroquímica Produtos Lácteos Frescura Alimentar Alimentos para animais	Gases Inflamáveis	Hidrocarbonetos	P 10/1- P30/1	T10/1	
		Metano	P10/2- P10/1	T10/4	
		Propano /Butano	P10/5		LY/gCT
		Hidrogénio	P10/9- PA3	T10/4- T10/9	
Odor a ranço Bebidas Alcoólicas Perfumes Processos Fermentativos Industria de Tinta	Compostos Orgânicos	Aldeídos	PA3	TA3	
		Solventes	P30/1	T30/1	
		Álcool	P30/2-	TA2	LY/AA
		Compostos Aromáticos (Tolueno, Benzeno, ...)	P70/0- P70/1	T70/0- 70/1 T70/2- 70/3	
Frescura Alimentar Monitorização Ambiental	Gases Tóxicos	Amónia, Aminas	PA2	T50/3	LY/G LY/GH
		Sulfureto de Hidrogénio		T50/1	LY/gCTI
		Monóxido de carbono			LY/G
Monitorização Ambiental Embalagens	Gases Oxidantes	Flúor	P40/1	T40/1	LY/LG
		Cloro	P40/2	T40/2	LY/LG
		Óxido de Azoto			LY/LG
		Ozono			LY/LG
Aroma de Alimentos Confeccionados Aroma Natural Voláteis Petroquímica	Controlo de Processos Culinários	Proposta Geral	P70/0	T70/0	
		Humidade	P70/1	T70/1	
		Monitorização de gases de combustão	P30/1- P30/2	T70/2- T70/3	
Monitorização Ambiental	Controlo de qualidade do ar	Monitorização da poluição atmosférica	PA1-PA2 PA3	TA1~TA3	
		Fumo de tabaco	PA3		
		Monóxido de carbono e monitorização de gases	PA6		LY/G

* e ** - Sensores Tipo P e T:

Estes sensores são baseados em óxido de metal com SnO_2 (semicondutor).

Existem dois tipos: tipo T e tipo P, a diferença reside na geometria dos sensores.

Tipo T: a camada “sensível” é colocada num tubo de alumínio, e assim o nome do sensor possui o prefixo T (exemplo : T30/1, T70/2, ..) (figura 6.2 A)

Tipo P: a camada “sensível” é colocada num substrato plano, e assim o nome do sensor possui o prefixo P (exemplo : P30/1, P10/1, P10/2, ..) (figura 6.2 B)

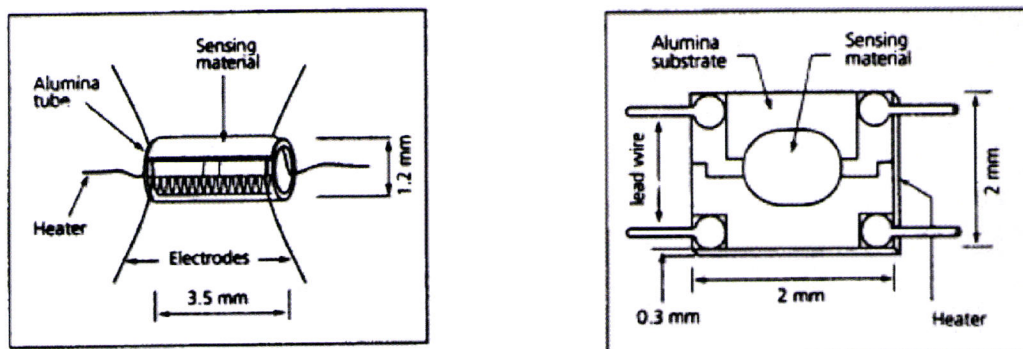


Figura 6.2

Exemplos de sensores A – Sensor Tipo T; B – Sensor Tipo P (Adaptado de AlpfaMos, 2002).

*** Sensores Tipo LY:

Os sensores tipo LY são sensores de óxido de metal com óxido Titânio e Crómio ($\text{Cr}_{2-x}\text{Ti}_x\text{O}_{3+y}$) e óxido de Tungsténio (WO_3).

A geometria destes sensores é similar aos do tipo P isto significa que a camada sensível tem como suporte um substrato plano de alumínio, na figura 6.3, é representado uma foto de um sensor tipo LY.

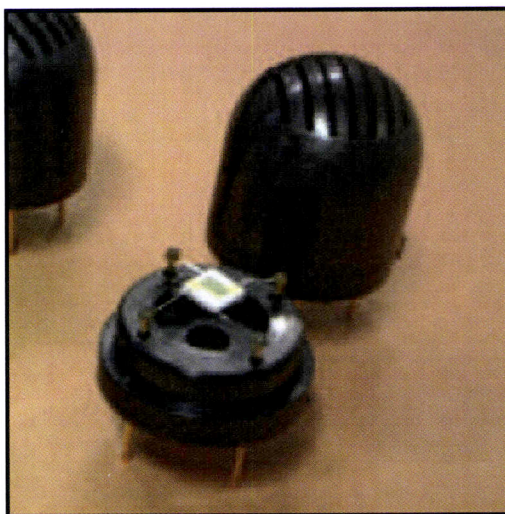


Figura 6.3

Imagem representativa de um sensor tipo LY (adaptado de AlphaMos, 2002).

Anexo VI

Fluxogramas para classificação de azeites

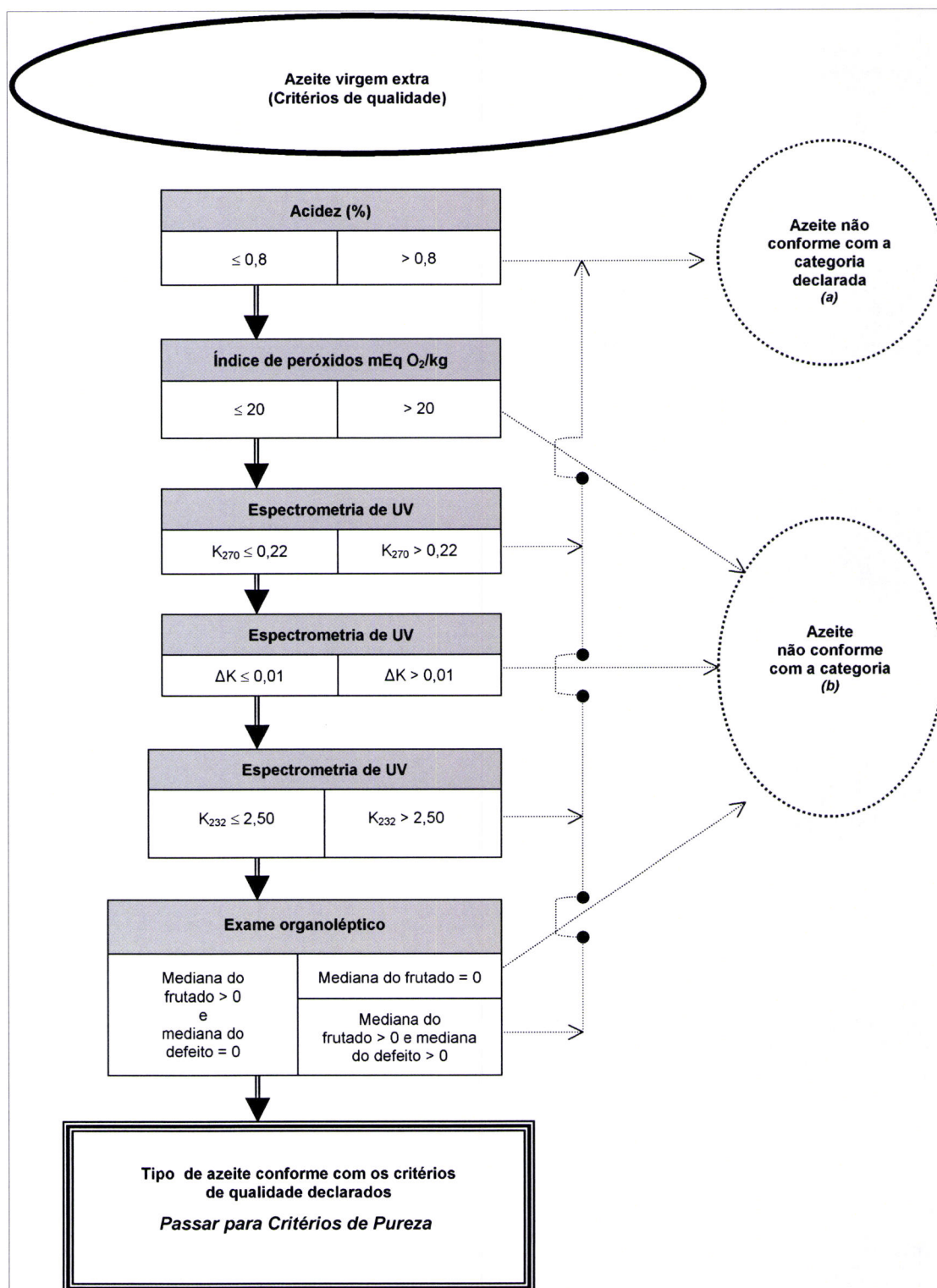


Figura 6.4

Fluxograma para verificar se azeite se pode classificar como azeite virgem extra, critérios de qualidade (esquema adaptado do Regulamento (CE) n.º 1989/2003).

- Ver azeite virgem ou lampante (critérios de qualidade, figura 6.6 (azeites virgens), ou critérios de qualidade e pureza, figura 6.7)
- Ver azeite lampante (critérios de qualidade e pureza, figura 6.8)

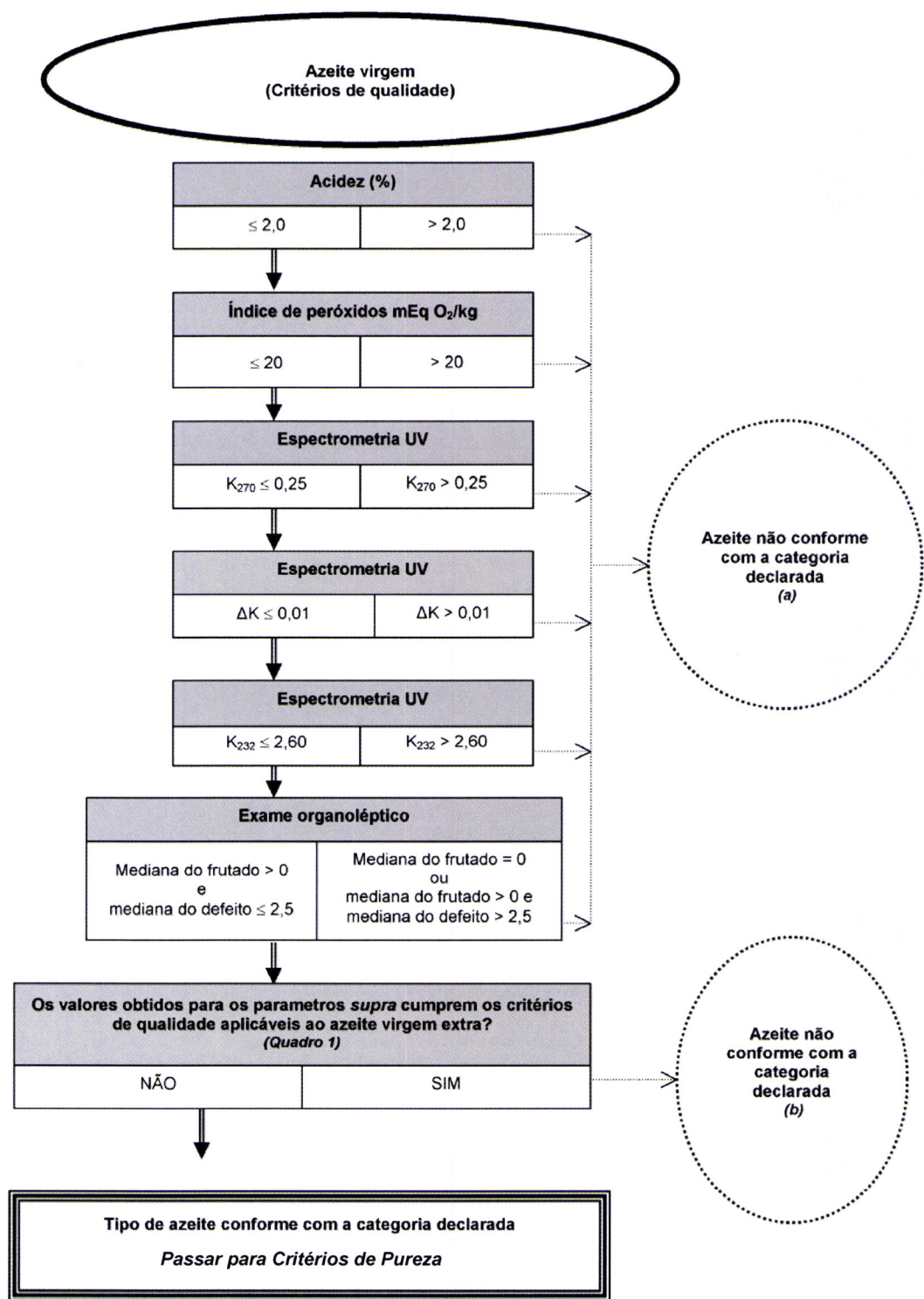


Figura 6.5

Fluxograma para verificar se azeite se pode classificar como azeite virgem, critérios de qualidade (esquema adaptado do Regulamento (CE) n.º 1989/2003).

- a) Ver azeite lampante (critérios de qualidade e pureza, figura 6.8)
- b) Ver azeite virgem extra (critérios de qualidade, figura 6.5)

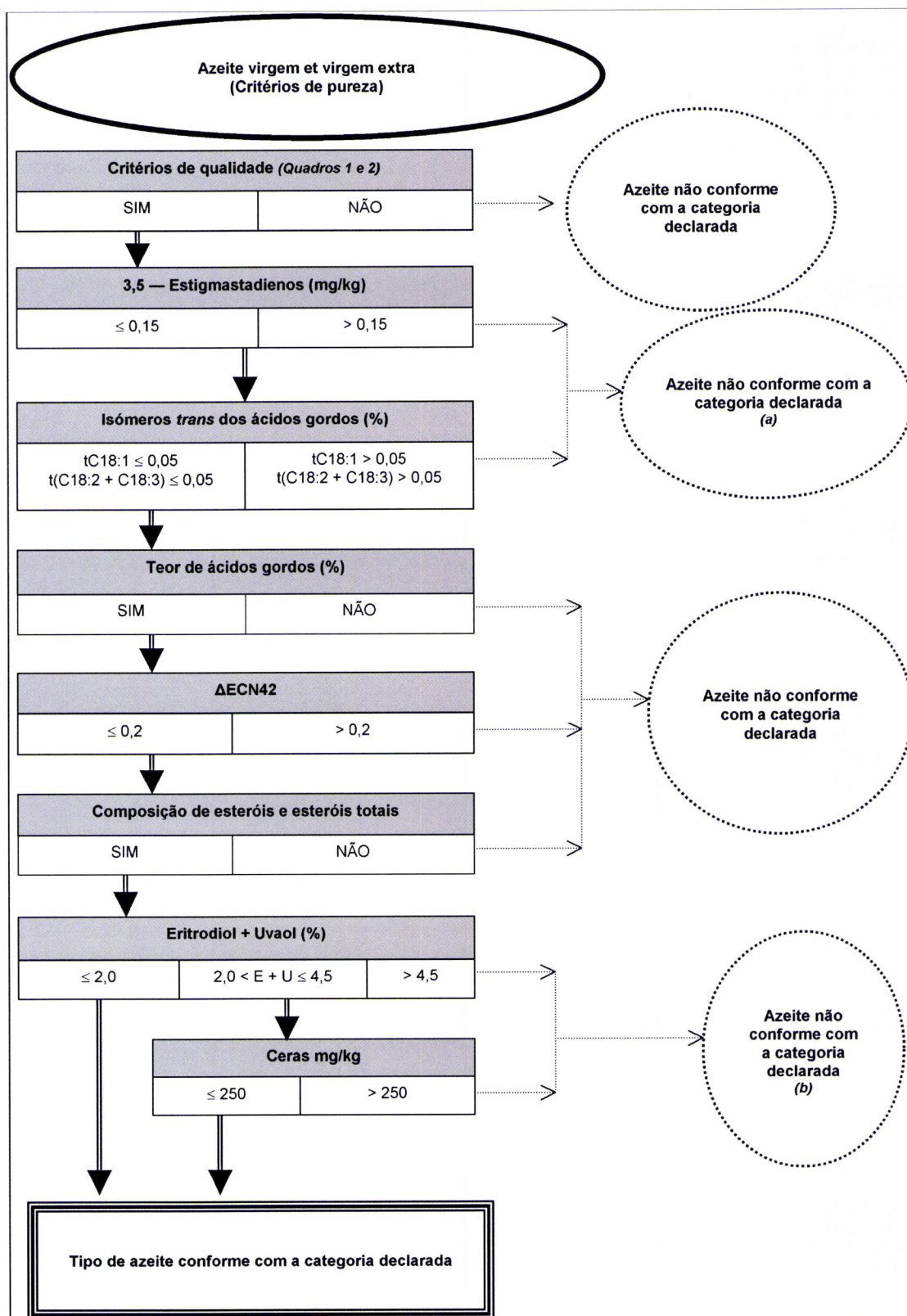


Figura 6.6

Fluxograma para verificar se azeite se pode classificar como azeite virgem extra, critérios de pureza (esquema adaptado do Regulamento (CE) n.º. 1989/2003).

a) Presença de óleo refinado (azeite ou outros)

b) Presença de óleo de bagaço de azeitona

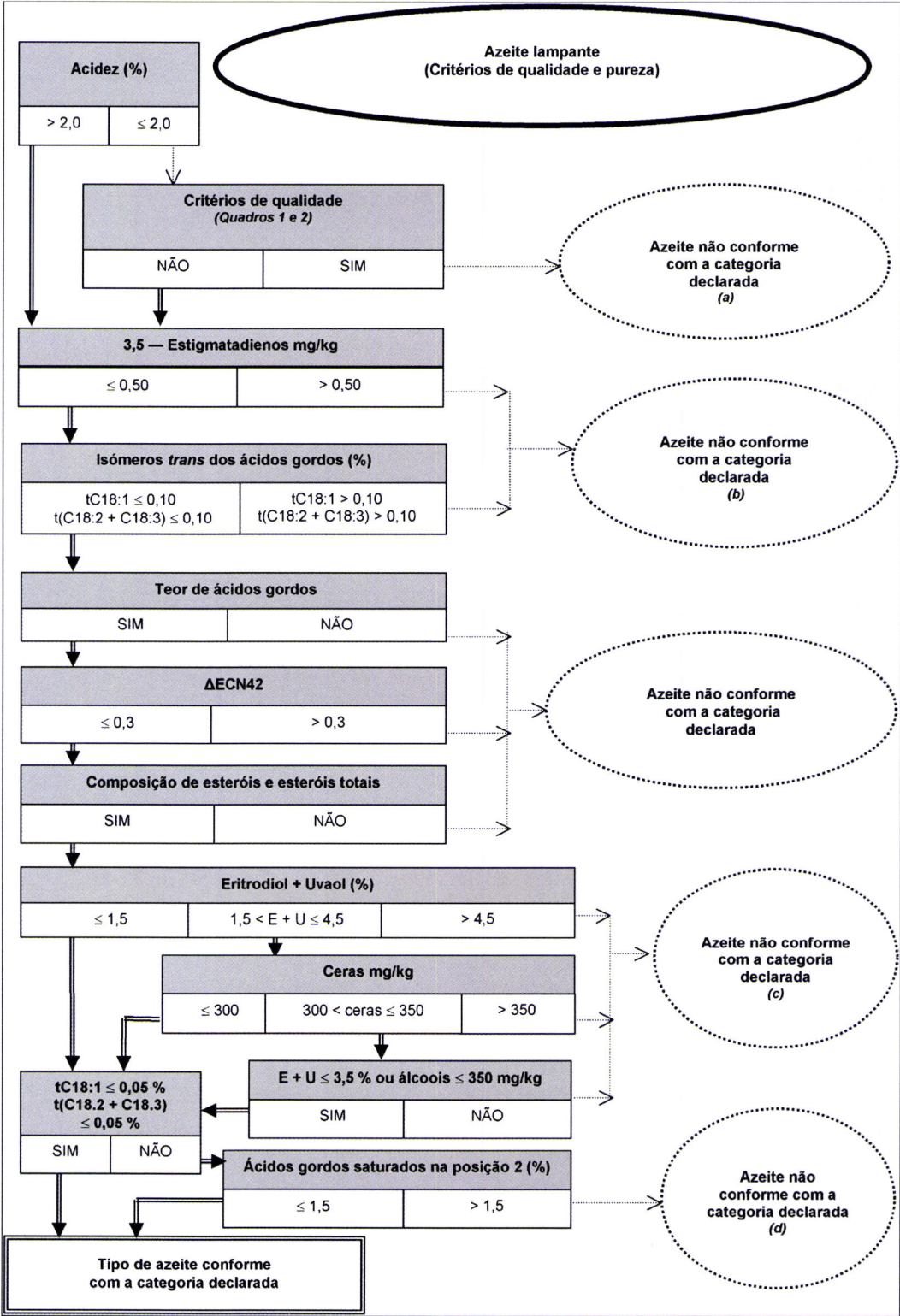


Figura 6.7

Fluxograma para verificar se azeite se pode classificar como azeite lampante, critérios de pureza (esquema adaptado do Regulamento (CE) nº. 1989/2003).

- a) Ver azeite virgem extra e azeite virgem (critérios de qualidade, figura 6.5 e 6.6)
- b) Presença de óleo refinado (azeite ou outros)
- c) Presença de óleo de bagaço de azeitona
- d) Presença de óleos esterificados

Anexo VII

Critérios de qualidade para o azeite.

Quadro 6.10

Valores obtidos e respectivas classificações para os critérios de qualidade dos diversos azeites, estudados
(Regulamento (CEE) N.º 2568/91 e Regulamento (CE) N.º 1989/2003)

Ano	Variedade	Extracção	Repetição	Acidez (% de ácido oleico)	K 232 (λ)	K 270 (λ)	Δ K (λ)	Análise sensorial (pontuação)	Índice Peróxidos (mEq O ₂ /kg)
2001	Carrasquenha	Duas Fases	1	0,1	2,04	0,15	0,00	6	24
			2	0,1	2,40	0,15	0,00	6	25
			3	0,1	2,22	0,15	0,00	6	25
		Prensas	1	0,3	2,21	0,15	0,01	6	27
			2	0,3	2,20	0,14	0,00	6	24
			3	0,3	2,21	0,14	0,00	6	25
	Cobrançosa	Duas Fases	1	0,1	2,23	0,14	0,01	7	23
			2	0,2	2,13	0,14	0,00	8	21
			3	0,2	2,18	0,14	0,00	8	22
		Prensas	1	0,3	2,18	0,14	0,00	5	26
			2	0,5	2,10	0,15	0,01	6	23
			3	0,4	2,14	0,15	0,01	6	24
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	0,1	1,93	0,15	0,01	6	15
			2	0,3	2,15	0,15	0,01	6	18
			3	0,2	2,04	0,15	0,01	6	16
		Prensas	1	0,3	2,11	0,13	0,00	6	14
			2	0,3	2,00	0,14	0,01	6	14
			3	0,3	2,05	0,14	0,00	6	14
XZ2002	Carrasquenha	Duas Fases	1	0,2	1,52	0,11	0,00	7	11
			2	0,2	1,57	0,11	-0,01	7	12
			3	0,2	1,51	0,11	-0,01	7	12
		Prensas	1	1,0	1,64	0,11	0,00	5	10
			2	1,1	1,58	0,10	0,00	6	11
			3	1,0	1,56	0,10	0,00	4	10
	Cobrançosa	Duas Fases	1	0,4	1,87	0,10	0,00	7	9
			2	0,4	1,87	0,14	0,00	8	9
			3	0,4	1,89	0,12	0,00	8	10
		Prensas	1	1,6	2,01	0,14	0,00	3	11
			2	3,0	1,73	0,12	0,00	5	9
			3	3,3	1,70	0,12	0,00	4	9
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	0,6	1,51	0,11	0,00	6	6
			2	0,4	1,38	0,08	0,00	4	6
			3	0,3	1,33	0,07	0,00	5	6
		Prensas	1	1,6	1,73	0,12	0,00	6	9
			2	3,0	1,64	0,11	0,00	6	9
			3	1,6	1,51	0,11	0,00	7	7

Quadro 6.10 (conclusão)

Valores obtidos e respectivas classificações para os critérios de qualidade dos diversos azeites, estudados (Regulamento (CEE) N.º 2568/91 e Regulamento (CE) N.º 1989/2003)

Ano	Variedade	Extracção	Repetição	Acidez (% de ácido oleico)	K 232 (λ /(g/100ml) cm)	K 270 (λ /(g/100ml) cm)	Δ K (λ /(g/100ml) cm)	Análise sensorial (pontuação)	Índice Peróxidos (mEq O ₂ /kg)
2003	Carrasquenha	Duas Fases	1	0,5	2,10	0,22	0,00	6	20
			2	0,8	1,86	0,18	0,00	6	18
			3	0,8	1,56	0,13	0,00	6	17
		Prensas	1	0,2	1,26	0,12	0,00	6	15
			2	0,4	1,26	0,12	0,00	6	13
			3	0,3	1,31	0,12	0,00	6	14
	Cobrançosa	Duas Fases	1	0,3	2,16	0,16	-0,01	7	21
			2	0,3	1,91	0,21	0,00	8	16
			3	0,3	2,32	0,19	-0,01	8	34
		Prensas	1	1,9	2,37	0,16	0,00	5	35
			2	2,1	2,68	0,28	0,01	6	36
			3	2,2	2,85	0,30	0,01	6	31
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	0,2	1,47	0,09	0,00	6	13
			2	0,2	1,47	0,08	0,00	6	12
			3	0,2	1,46	0,09	-0,01	6	14
		Prensas	1	2,6	1,58	0,12	0,00	6	16
			2	2,9	1,59	0,13	0,00	6	17
			3	1,7	1,55	0,14	0,00	6	18
2004	Carrasquenha	Duas Fases	1	0,3	1,63	0,01	0,00	7	17
			2	0,3	1,62	0,01	0,00	7	16
			3	0,3	1,60	0,11	0,00	7	16
		Prensas	1	2,1	2,13	0,02	0,00	5	20
			2	2,6	1,83	0,14	0,00	6	17
			3	1,5	1,64	0,12	0,00	4	15
	Cobrançosa	Duas Fases	1	0,4	2,34	0,02	0,00	7	39
			2	0,4	2,30	0,18	0,00	8	35
			3	0,4	1,98	0,18	0,00	8	16
		Prensas	1	3,5	1,68	0,14	0,00	3	12
			2	3,6	2,18	0,15	0,00	5	17
			3	3,3	2,21	0,15	0,00	4	18
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	0,3	1,50	0,08	0,00	6	6
			2	0,3	1,46	0,09	0,00	6	8
			3	0,4	1,46	0,10	0,00	7	8
		Prensas	1	2,3	1,96	0,13	-0,01	6	17
			2	2,3	1,69	0,12	0,00	4	13
			3	1,6	1,68	0,10	0,00	5	10

Tendo por base o Regulamento (CE) N.º 1989/2003:

- Acidez (%) – Azeite Virgem Extra $\leq 0,8$; Azeite Virgem $\leq 2,0$; Azeite Lampante $> 2,0$
- Índice de peróxidos mEq O₂/kg – Azeite Virgem Extra ≤ 20 ; Azeite Virgem ≤ 20 ; Azeite Lampante > 20
- K232 – Azeite Virgem Extra $\leq 2,5$; Azeite Virgem $\leq 2,6$; Azeite Lampante $> 2,6$
- K270 – Azeite Virgem Extra $\leq 2,2$; Azeite Virgem $\leq 2,5$; Azeite Lampante $> 2,5$
- Δ K – Azeite Virgem Extra $\leq 0,01$; Azeite Virgem $\leq 0,01$; Azeite Lampante $> 0,01$

Tendo por base o Regulamento (CEE) N.º 2568/91:

- Exame organoléptico - Azeite Virgem Extra $\geq 6,5$; Azeite Virgem $\geq 5,5$; Azeite Virgem corrente $\geq 3,5$; Azeite Lampante $< 3,5$.

Anexo VIII

Análise estatística para critérios de qualidade, azeite.

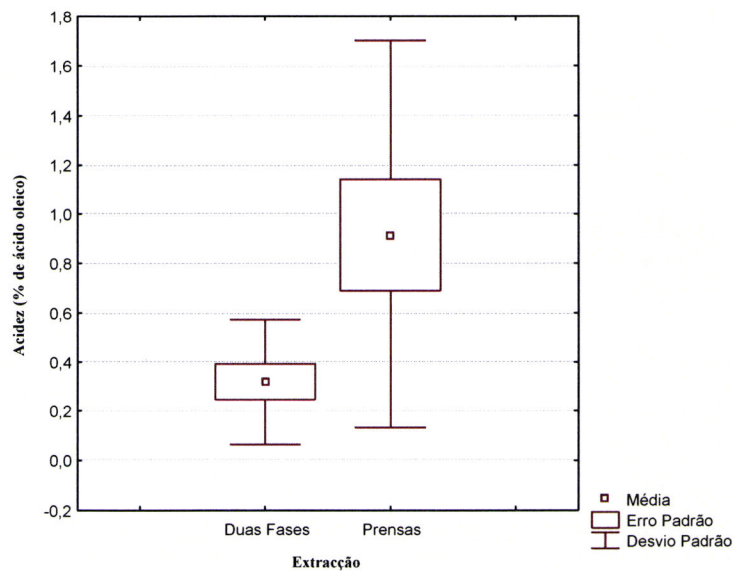


Figura 6.8

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Acidez para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis test: $H(1, N=24) = 6,343354; p = 0,0118$

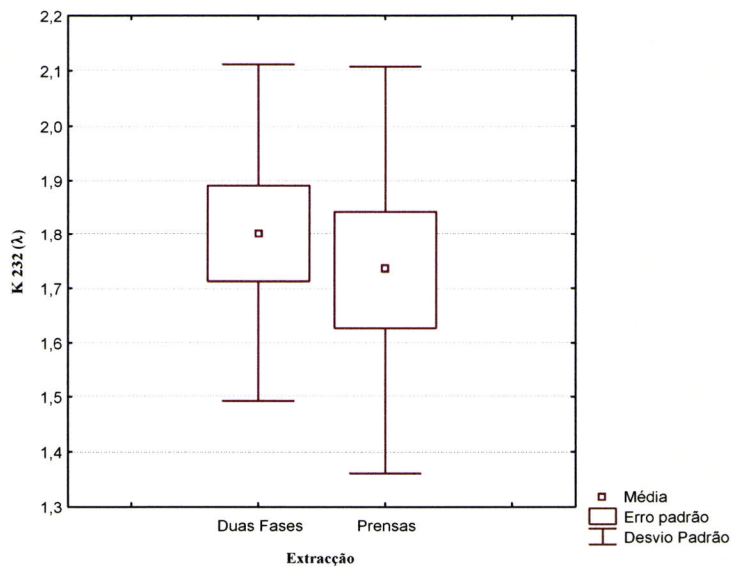
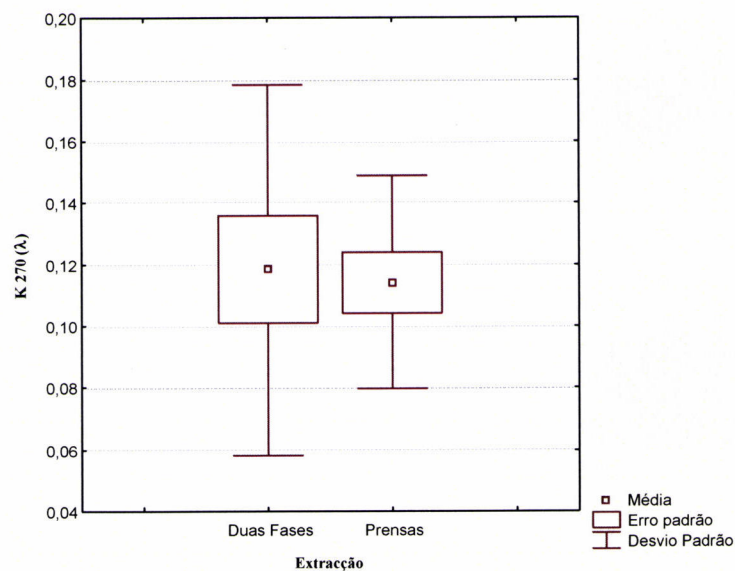
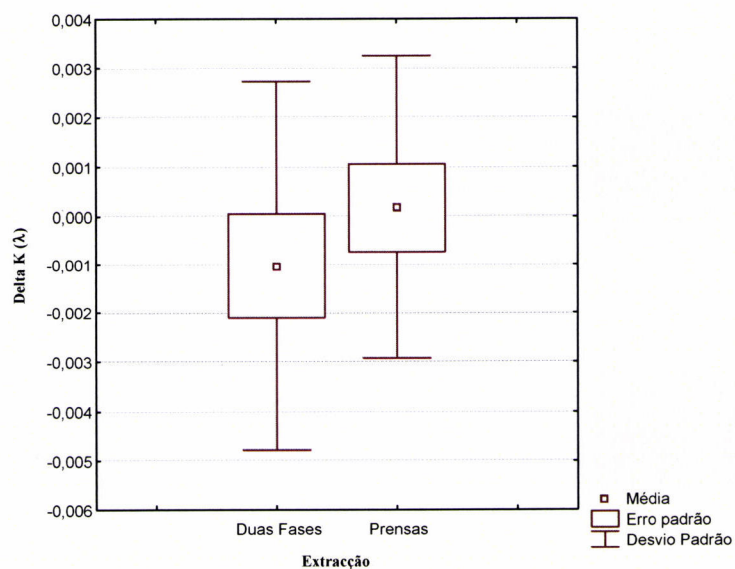


Figura 6.9

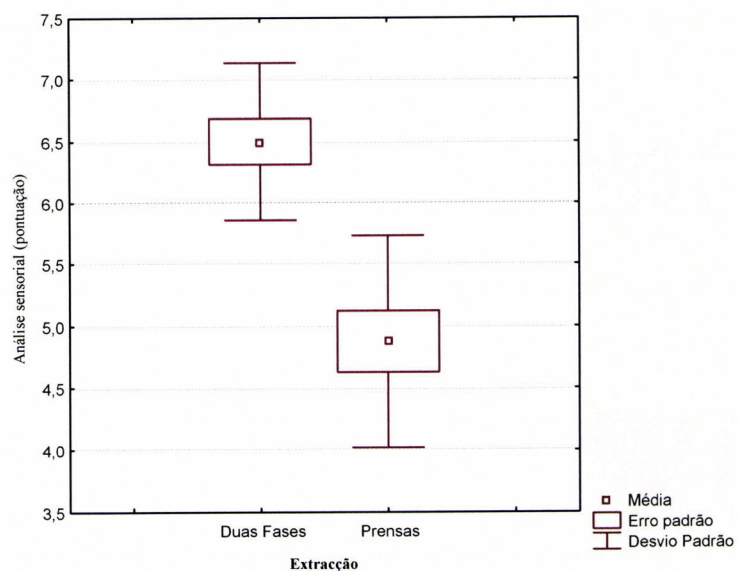
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a absorvância K232, para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0,0675294; p = 0,7950$

**Figura 6.10**

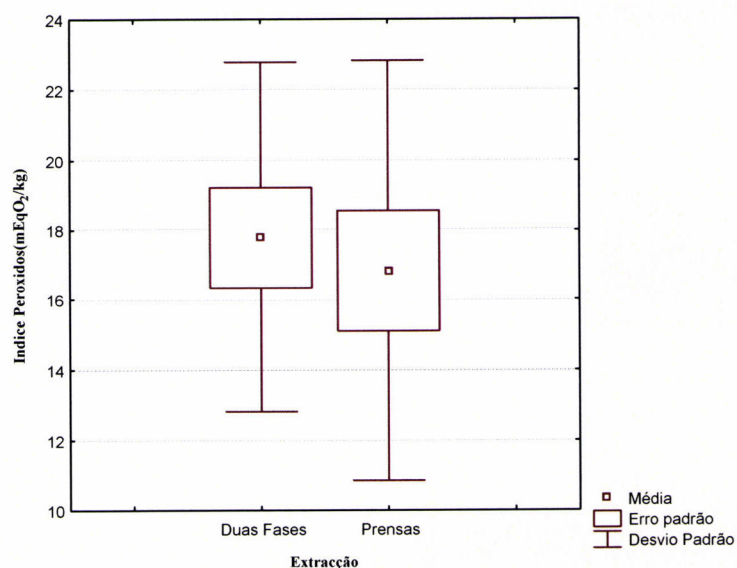
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a absorvância K270, para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 3,3014887$ $p = 0,05830$

**Figura 6.11**

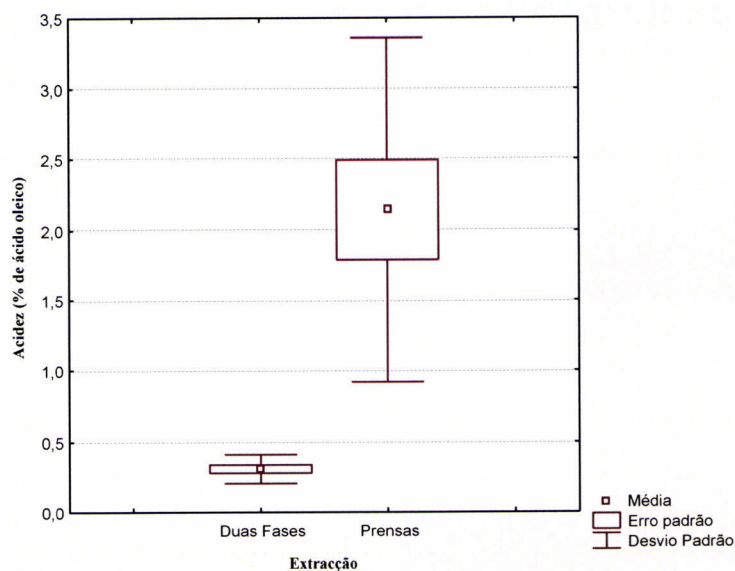
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a absorvância ΔK , para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 3,4808362$ $p = 0,04880$

**Figura 6.12**

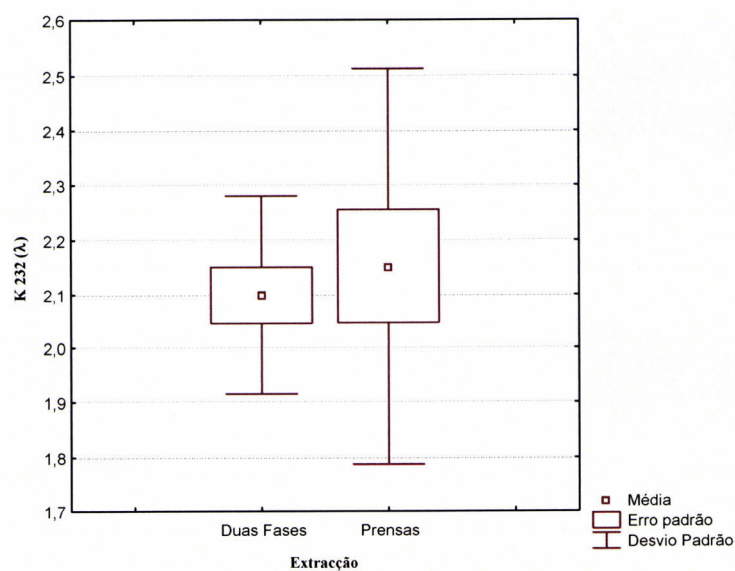
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a absorvância Análise sensorial, para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 14,26582$ $p = ,0002$.

**Figura 6.13**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o Índice de Peróxidos, para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = ,4414091$ $p = ,5064$.

**Figura 6.14**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Acidez, para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24)=14,59615$ $p=,0001$.

**Figura 6.15**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Absorvância K 232, para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24)=,0133449$ $p=,9080$

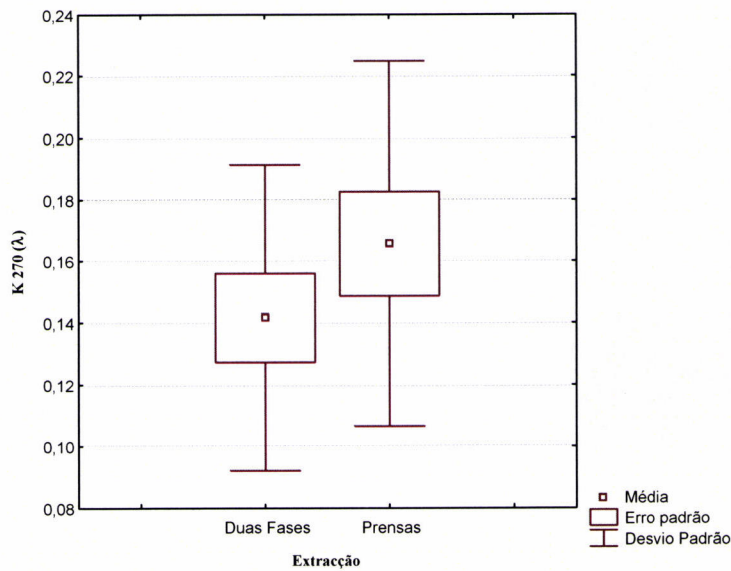


Figura 6.16

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Absorvância K 270, para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0,403333$ $p = 0,5254$

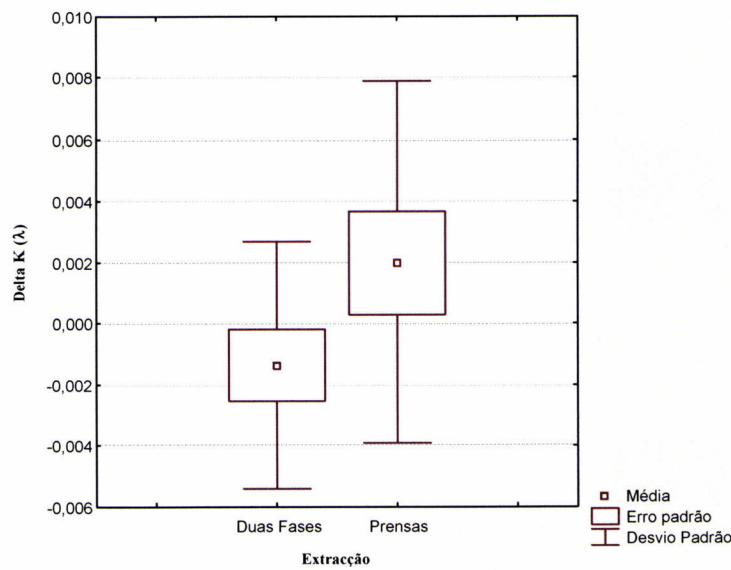
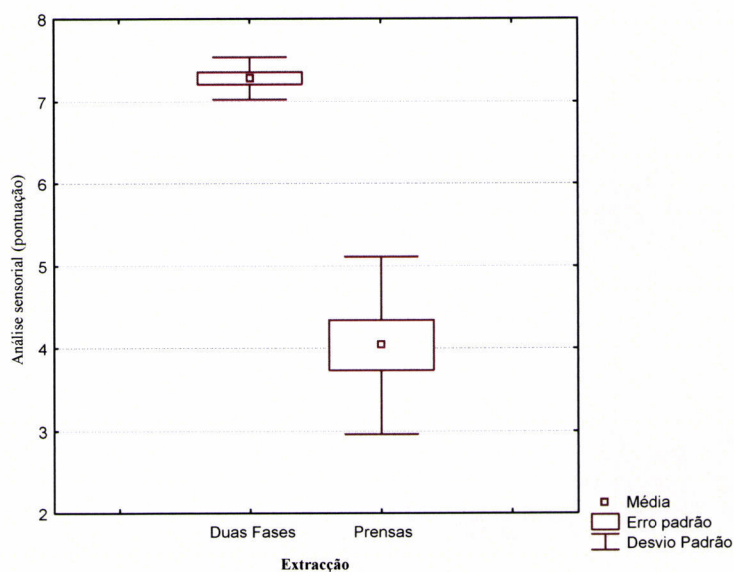
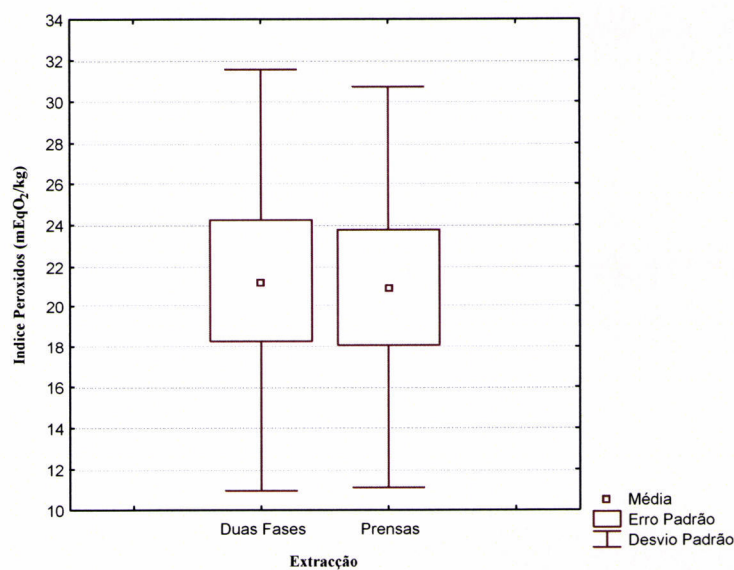


Figura 6.17

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Absorvância ΔK , para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 1,268603$ $p = 0,2600$

**Figura 6.18**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Análise sensorial, para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24)=18,07367$
 $p=,0000$.

**Figura 6.19**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o Índice de Peróxidos, para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24)=,0535662$
 $p=,8170$.

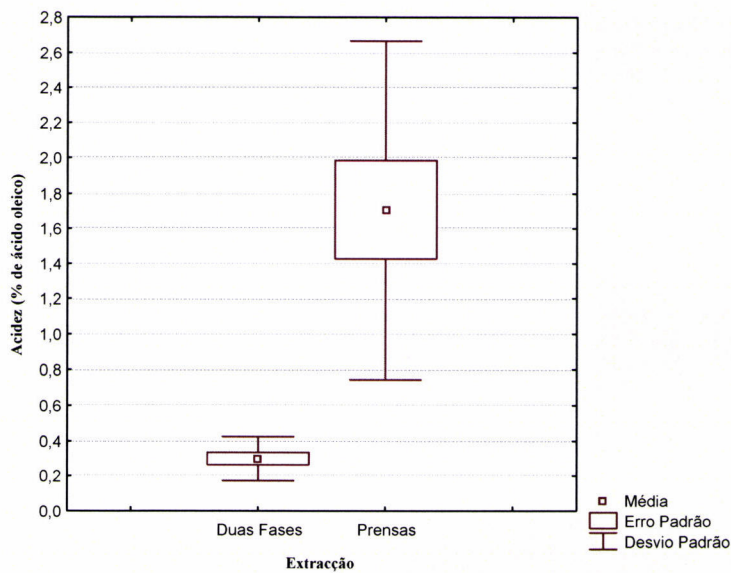


Figura 6.20

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Acidez, para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 12,24342$ $p = ,0005$

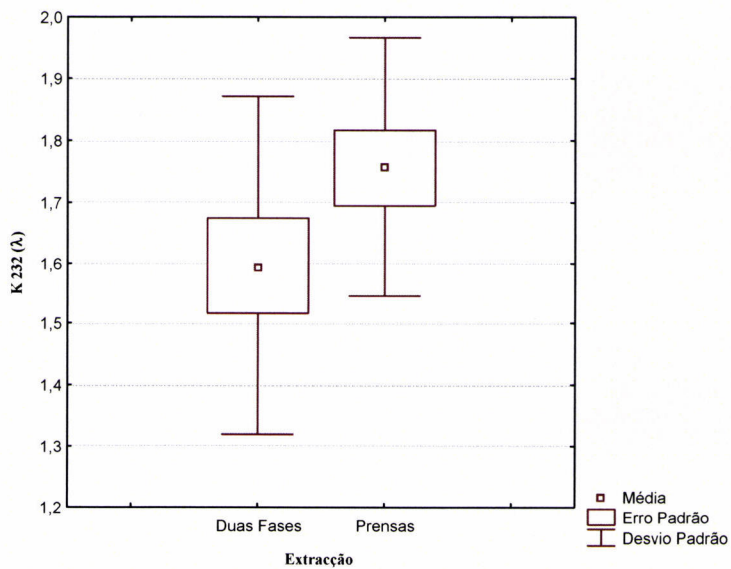
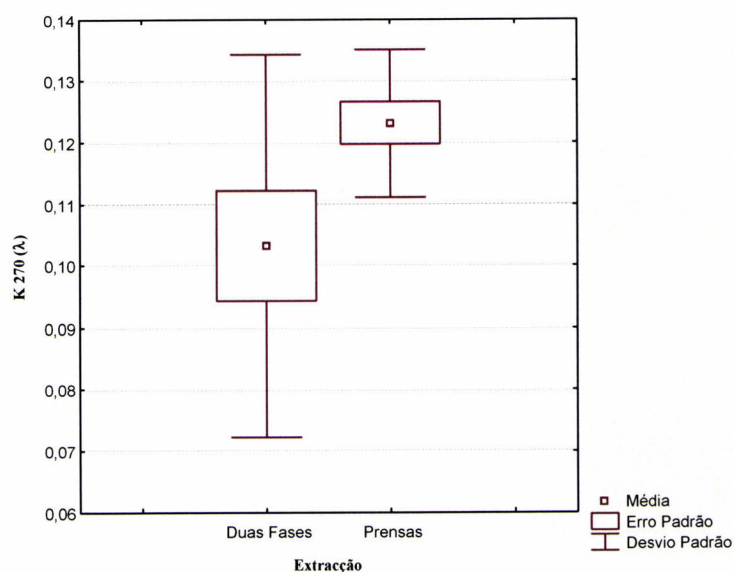
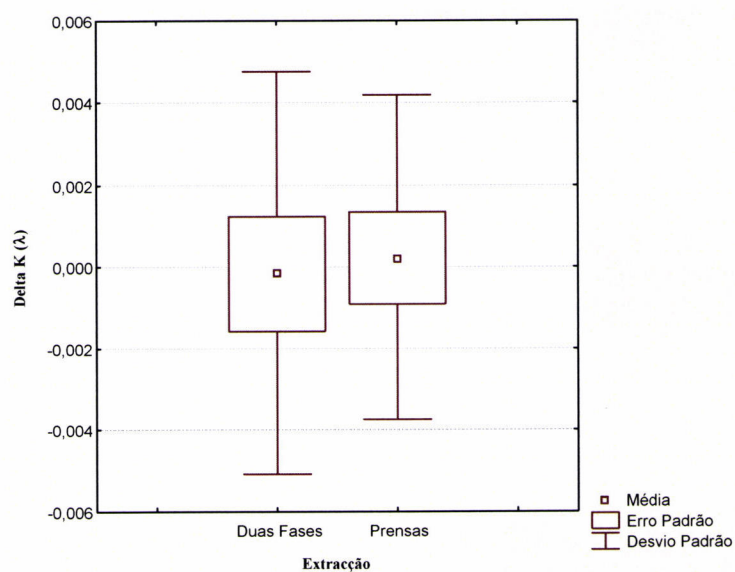


Figura 6.21

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a absorvância K 232, para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 5,882558$ $p = ,0153$

**Figura 6.22**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Absorvância K 270, para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 3,853333$ $p = ,0496$.

**Figura 6.23**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Absorvância ΔK , para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = ,7045090$ $p = ,4013$.

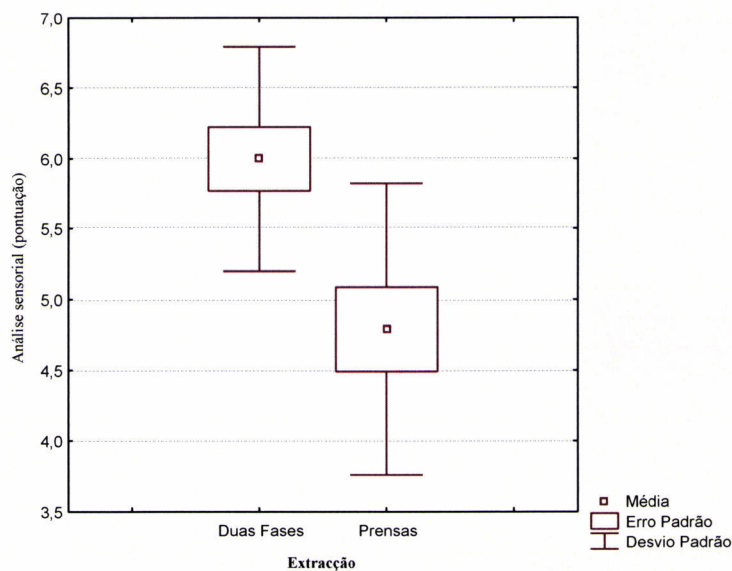


Figura 6.24

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Análise Sensorial, para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 8,325908$ $p = ,0039$

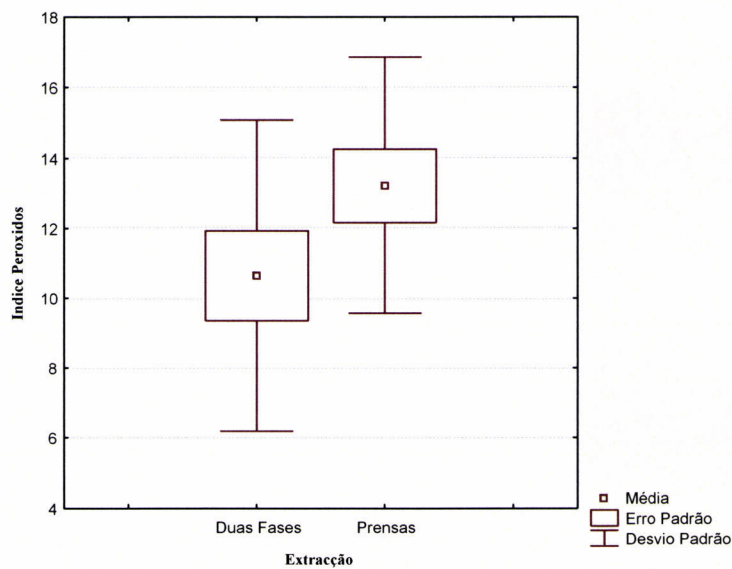


Figura 6.25

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a Índice de Peróxidos, para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 2,435294$ $p = ,1186$.

Anexo IX

Crêterios de pureza.

Quadro 6.11

Valores obtidos e respectivas classificações para os esteróis e álcoois triterpénicos dos diversos azeites (Regulamento (CE) N.º 1989/2003)

Ano	Variedade	Extracção	Repetição	Colesterol (%)	Campesterol (%)	Estigmasterol (%)	β - sitosterol (aparente) (%)	Δ-7estigmasterol (%)	Eritrodíol + Uvaol (%)	Esteróis Totais (mg/kg)
2001	Carrasquenha	Duas Fases	1	0,09	2,60	1,26	95,50	0,14	2,67	1661
		Duas Fases	2	0,12	2,64	1,40	94,87	0,15	2,22	1343
		Duas Fases	3	0,11	2,62	1,33	95,18	0,15	2,45	1502
		Prensas	1	0,29	2,72	1,51	94,40	0,16	2,23	1500
		Prensas	2	0,14	2,76	1,48	94,66	0,18	2,39	1618
		Prensas	3	0,22	2,74	1,50	94,53	0,17	2,31	1559
	Cobrançosa	Duas Fases	1	0,08	2,64	0,90	95,44	0,16	1,46	1574
		Duas Fases	2	0,10	2,58	1,35	94,95	0,16	2,48	1606
		Duas Fases	3	0,09	2,61	1,12	95,19	0,16	1,97	1590
		Prensas	1	0,14	2,62	1,32	94,92	0,18	2,57	1527
		Prensas	2	0,43	2,78	1,36	94,46	0,18	1,63	1449
		Prensas	3	0,29	2,70	1,34	94,69	0,18	2,10	1488
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	0,20	3,33	1,47	94,12	0,16	1,25	2494
		Duas Fases	2	0,29	0,94	0,39	92,75	0,15	1,17	2523
		Duas Fases	3	0,24	2,14	0,93	93,44	0,16	1,21	2508
		Prensas	1	0,47	3,10	1,54	93,72	0,20	1,50	2009
		Prensas	2	0,20	3,19	1,57	93,97	0,14	1,42	2223
		Prensas	3	0,33	3,15	1,56	93,84	0,17	1,46	2116
2002	Carrasquenha	Duas Fases	1	0,13	2,75	0,96	95,07	0,17	2,54	1436
		Duas Fases	2	0,14	2,96	1,20	94,45	0,39	2,77	1593
		Duas Fases	3	0,19	2,84	1,16	94,82	0,12	2,46	1541
		Prensas	1	0,12	2,99	1,13	94,69	0,19	2,54	1475
		Prensas	2	0,21	2,93	0,99	94,86	0,15	2,49	1375
		Prensas	3	0,25	2,84	1,03	94,76	0,15	2,30	1430
	Cobrançosa	Duas Fases	1	0,19	2,67	2,19	93,81	0,11	2,18	1546
		Duas Fases	2	0,14	2,61	2,12	94,03	0,10	2,11	1510
		Duas Fases	3	0,14	2,80	2,19	94,10	0,12	2,05	1192
		Prensas	1	0,17	2,48	2,79	93,37	0,10	1,77	1395
		Prensas	2	0,22	2,40	2,58	93,42	0,12	1,90	1449
		Prensas	3	0,25	2,48	2,64	93,49	0,09	1,83	1408
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	0,12	2,78	1,68	94,21	0,19	1,91	1476
		Duas Fases	2	0,12	2,78	1,68	94,21	0,19	1,91	1537
		Duas Fases	3	0,13	2,70	1,35	94,59	0,17	1,73	1624
		Prensas	1	0,12	2,93	1,49	94,25	0,17	1,88	1573
		Prensas	2	0,13	2,81	1,24	94,68	0,18	1,87	1586
		Prensas	3	0,12	2,71	1,47	94,64	0,13	1,74	1629
2003	Carrasquenha	Duas Fases	1	0,15	3,01	0,99	94,87	0,22	1,65	1628
		Duas Fases	2	0,10	2,84	1,17	94,82	0,21	2,02	1612
		Duas Fases	3	0,26	2,82	1,16	95,18	0,24	1,84	1495
		Prensas	1	0,12	2,94	1,22	95,06	0,20	2,20	1676
		Prensas	2	0,11	2,70	0,80	95,67	0,19	1,49	1683
		Prensas	3	0,16	2,86	1,23	94,75	0,22	2,03	1624
	Cobrançosa	Duas Fases	1	0,14	2,46	1,28	95,37	0,15	2,59	1489
		Duas Fases	2	0,13	2,80	1,42	94,64	0,25	2,08	1443
		Duas Fases	3	0,34	2,88	1,38	94,36	0,17	2,08	1370
		Prensas	1	0,29	2,68	0,99	94,99	0,15	1,03	1758
		Prensas	2	0,22	2,81	1,06	94,65	0,20	1,37	1818

Quadro 6.11 (continuação)
Valores obtidos e respectivas classificações para os esteróis e álcoois triterpênicos dos diversos azeites
(Regulamento (CE) N.º 1989/2003)

Ano	Variedade	Extracção	Repetição	Colesterol (%)	Campesterol (%)	Estigmasterol (%)	β - sitosterol (aparente) (%)	Δ-7estigmasterol (%)	Eritrodiol + Uvaol (%)	Esteróis Totais (mg/kg)
	Galega Vulgar	Prensas	3	0,20	2,80	1,03	94,83	0,17	1,28	1848
		Duas Fases	1	0,27	2,81	0,83	95,36	0,36	1,59	1606
		Duas Fases	2	0,12	2,78	1,68	94,21	0,19	1,91	1537
		Duas Fases	3	0,13	2,70	1,35	94,59	0,17	1,73	1624
		Prensas	1	0,20	2,90	0,60	95,40	0,20	1,00	1477
		Prensas	2	Nd	2,50	0,60	95,80	0,20	1,10	1539
		Prensas	3	0,30	2,70	0,60	95,10	0,20	1,10	1495
2004	Carrasqueira	Duas Fases	1	0,23	2,64	1,04	95,24	0,16	1,89	1475
		Duas Fases	2	0,20	2,57	0,91	95,50	0,15	1,69	1375
		Duas Fases	3	0,33	2,76	0,96	95,08	0,18	1,72	1430
		Prensas	1	0,31	2,69	1,16	95,26	0,18	2,08	1436
		Prensas	2	0,20	2,64	1,14	95,03	0,17	1,97	1593
		Prensas	3	0,18	2,66	1,07	95,21	0,15	2,05	1541
	Cobrançosa	Duas Fases	1	0,14	2,50	1,43	94,62	0,19	1,29	1438
		Duas Fases	2	0,11	2,47	1,41	93,88	0,15	1,40	1478
		Duas Fases	3	0,13	2,52	1,42	94,98	0,15	1,45	1418
		Prensas	1	0,36	2,76	1,17	94,70	0,22	1,88	1527
		Prensas	2	0,28	2,77	1,21	94,83	0,20	1,79	1463
		Prensas	3	0,21	2,79	1,32	94,70	0,16	1,64	1597
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	0,13	2,90	0,66	95,07	0,25	0,89	1595
		Duas Fases	2	0,14	2,96	0,59	95,41	0,02	1,10	1710
		Duas Fases	3	0,15	2,95	0,62	95,11	0,28	1,25	1712
		Prensas	1	0,23	2,82	0,93	94,95	0,18	1,58	1644
		Prensas	2	0,19	2,94	0,84	94,80	0,28	1,42	1623
		Prensas	3	0,24	2,85	0,97	94,84	0,20	1,66	1590

Tendo por base o Regulamento (CE) N.º 1989/2003:

- Para o **Azeite Virgem Extra** os valores referência são os seguintes: Colesterol (%) ≤ 0,5; Brassicasterol (%) ≤ 0,1; Campesterol (%) ≤ 4,0; Estigmasterol (%) < Campesterol; Betasitosterol (%) (2) . ≥ 93,0; Delta-7-Estigmasterol ≤ 0,5; Esteróis totais (mg/kg) ≥ 1 000 e o Eritrodiol + uvaol (%) ≤ 4,5

Quadro 6.12
Resultados obtidos para os Ácidos Gordos (em %).

Ano	Variedade	Extracção	Repetição	C14:0	C16:0	C16:1	C17:0	C17:1	C18:0	C18:1	C18:2	C20:0	C18:3	C20:1	C22:0	C24:0	T C18:0	T C18:1 + T C18:2
2001	Carrasqueira	Duas Fases	1	0,01	14,5	1,5	0,1	0,1	2,2	69,0	10,8	0,4	0,8	0,3	0,1	0,2	0,03	0,05
			2	0,02	14,0	1,5	0,0	0,1	2,0	70,3	10,6	0,4	0,8	0,3	0,1	0,0	0,03	0,02
			3	0,01	14,3	1,5	0,1	0,1	2,1	69,6	10,7	0,4	0,8	0,3	0,1	0,1	0,03	0,04
		Prensas	1	0,01	12,9	1,2	0,1	0,1	2,6	72,2	9,3	0,4	0,8	0,2	0,1	0,1	0,02	0,01
			2	0,01	13,8	1,3	0,1	0,1	2,4	71,1	9,8	0,3	0,8	0,2	0,1	0,0	0,02	0,01
			3	0,01	13,3	1,3	0,1	0,1	2,5	71,6	9,6	0,4	0,8	0,2	0,1	0,0	0,02	0,01
	Cobrançosa	Duas Fases	1	0,01	11,5	0,8	0,1	0,2	4,2	72,8	8,5	0,5	0,9	0,2	0,1	0,1	0,02	0,01
			2	0,01	13,7	1,3	0,1	0,1	2,3	71,1	9,9	0,4	0,8	0,3	0,1	0,1	0,02	0,01
			3	0,01	12,6	1,0	0,1	0,2	3,3	71,9	9,2	0,4	0,8	0,2	0,1	0,1	0,02	0,01
		Prensas	1	0,01	13,6	1,3	0,1	0,9	2,3	70,4	9,9	0,4	0,7	0,3	0,1	0,1	0,02	0,01
			2	0,01	11,8	0,9	0,1	0,2	3,7	73,5	8,1	0,5	0,8	0,2	0,1	0,1	0,02	0,01
			3	0,01	12,7	1,1	0,1	0,5	3,0	72,0	9,0	0,4	0,8	0,2	0,1	0,1	0,02	0,01
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	0,00	14,7	2,8	0,1	0,3	1,6	73,7	5,1	0,3	0,8	0,3	0,1	0,1	0,00	0,01
			2	0,01	15,0	3,0	0,1	0,3	1,5	73,5	5,0	0,3	0,8	0,3	0,1	0,1	0,01	0,01
			3	0,01	14,9	2,9	0,1	0,3	1,6	73,6	5,1	0,3	0,8	0,3	0,1	0,1	0,01	0,01
		Prensas	1	0,01	14,1	2,2	0,1	0,2	2,1	72,9	6,7	0,4	0,8	0,3	0,1	0,1	0,01	0,01
			2	0,01	14,2	2,4	0,1	0,3	2,0	73,2	6,2	0,4	0,8	0,3	0,1	0,1	0,02	0,02
			3	0,01	14,2	2,3	0,1	0,3	2,0	73,0	6,5	0,4	0,8	0,3	0,1	0,1	0,02	0,01
2002	Carrasqueira	Duas Fases	1	0,01	13,3	1,4	0,1	0,1	2,0	73,3	8,3	0,4	0,7	0,3	0,1	0,0	0,01	0,01
			2	0,01	13,4	1,5	0,1	0,1	2,1	73,4	8,1	0,4	0,7	0,3	0,1	0,1	0,01	0,01
			3	0,01	14,2	1,4	0,1	0,1	2,0	72,7	8,1	0,3	0,7	0,2	0,1	0,1	0,01	0,01
		Prensas	1	0,01	13,8	1,2	0,0	0,1	2,1	74,0	8,4	0,4	0,7	0,2	0,1	0,1	0,02	0,01
			2	0,01	13,7	1,1	0,0	0,1	2,1	73,0	8,5	0,4	0,7	0,3	0,1	0,1	0,01	0,01
			3	0,01	13,8	1,2	0,0	0,1	2,0	73,2	8,4	0,3	0,7	0,2	0,1	0,1	0,01	0,01
	Cobrançosa	Duas Fases	1	0,00	14,4	1,5	0,1	0,2	3,4	65,7	13,2	0,4	0,8	0,2	0,1	0,0	0,01	0,01
			2	0,00	14,5	1,5	0,1	0,2	3,3	66,6	12,4	0,3	0,8	0,2	0,1	0,0	0,01	0,01
			3	0,00	13,7	1,4	0,1	0,2	3,4	67,7	11,9	0,4	0,8	0,2	0,1	0,0	0,02	0,01
		Prensas	1	0,01	14,2	1,5	0,1	0,2	4,0	66,9	11,7	0,4	0,9	0,2	0,1	0,0	0,00	0,02
			2	0,01	13,8	1,4	0,1	0,2	4,0	67,8	11,1	0,4	0,9	0,2	0,1	0,0	0,01	0,02
			3	0,01	13,6	1,4	0,1	0,2	4,1	67,5	11,5	0,4	0,9	0,2	0,1	0,0	0,02	0,02
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	0,01	14,1	1,8	0,1	0,3	2,4	73,9	6,1	0,3	0,8	0,2	0,1	0,0	0,01	0,01
			2	0,01	14,8	1,9	0,0	0,3	2,3	73,4	6,0	0,3	0,8	0,2	0,1	0,0	0,01	0,01
			3	0,01	14,2	1,9	0,0	0,3	2,1	75,1	5,0	0,3	0,7	0,2	0,1	0,0	0,00	0,01
		Prensas	1	0,01	14,3	1,9	0,1	0,3	1,9	76,1	4,0	0,3	0,7	0,2	0,1	0,0	0,01	0,01
			2	0,01	14,9	2,1	0,1	0,3	1,9	75,5	4,0	0,3	0,7	0,2	0,1	0,0	0,01	0,01
			3	0,01	14,5	2,1	0,1	0,3	1,8	76,1	3,8	0,3	0,7	0,2	0,1	0,0	0,01	0,01
2003	Carrasqueira	Duas Fases	1	0,01	15,6	1,4	0,0	0,1	2,1	71,5	7,9	0,3	0,8	0,2	0,1	0,0	0,01	0,02
			2	0,02	16,3	1,5	0,0	0,1	2,1	70,4	8,2	0,3	0,7	0,2	0,1	0,0	0,02	0,01
			3	0,01	13,6	1,3	0,0	0,1	2,4	72,5	8,6	0,4	0,7	0,3	0,1	0,1	0,01	0,01
		Prensas	1	0,01	13,9	1,4	0,1	0,1	2,5	71,2	9,0	0,4	0,8	0,3	0,1	0,1	0,01	0,01
			2	0,01	14,9	1,4	0,1	0,1	2,5	70,9	8,5	0,4	0,8	0,2	0,1	0,1	0,01	0,01
			3	0,01	13,9	1,8	0,1	0,3	2,0	75,3	5,1	0,4	0,7	0,3	0,1	0,0	0,02	0,01
	Cobrançosa	Duas Fases	1	0,00	13,2	1,3	0,1	0,1	2,3	68,0	13,5	0,4	0,7	0,2	0,1	0,1	0,01	0,01
			2	0,00	14,5	1,7	0,1	0,2	2,8	69,9	9,0	0,4	0,9	0,2	0,1	0,1	0,01	0,01
			3	0,00	15,0	1,7	0,1	0,2	3,0	68,0	10,2	0,4	1,0	0,2	0,1	0,1	0,02	0,02

Quadro 6.12 (conclusão)
Resultados obtidos para os Ácidos Gordos (em %).

		Extracção	Repetição	C14:0	C16:0	C16:1	C17:0	C17:1	C18:0	C18:1	C18:2	C20:0	C18:3	C20:1	C22:0	C24:0	T C18:0	T C18:1 + T C18:2
2004	Galega Vulgar	Prensas	1	0,01	17,4	2,0	0,1	0,3	3,1	62,1	13,1	0,4	1,0	0,2	0,1	0,0	0,02	0,03
			2	0,01	18,1	2,1	0,1	0,3	3,0	61,8	12,8	0,3	1,0	0,2	0,1	0,0	0,02	0,01
			3	0,01	15,4	1,7	0,1	0,3	3,3	64,4	12,8	0,4	1,0	0,2	0,1	0,1	0,01	0,01
		Duas Fases	1	0,01	16,5	2,2	0,1	0,3	1,9	72,4	5,4	0,3	0,7	0,2	0,1	0,0	0,01	0,00
			2	0,01	14,1	1,8	0,1	0,2	2,0	74,9	5,4	0,3	0,7	0,2	0,1	0,0	0,01	0,02
			3	0,01	13,5	1,3	0,0	0,1	2,4	72,6	8,5	0,4	0,7	0,3	0,1	0,1	0,02	0,01
		Prensas	1	0,01	14,3	2,0	0,1	0,3	1,8	76,0	4,0	0,3	0,7	0,3	0,1	0,0	0,01	0,01
			2	0,01	14,0	2,0	0,1	0,3	1,8	76,5	3,9	0,3	0,7	0,2	0,1	0,0	0,01	0,01
			3	0,01	14,2	2,0	0,1	0,3	1,8	73,1	7,2	0,3	0,7	0,2	0,1	0,0	0,01	0,02
	Carrasqueira	Duas Fases	1	0,01	14,4	1,4	0,0	0,1	2,0	70,7	9,9	0,3	0,6	0,3	0,1	0,1	0,01	0,01
			2	0,01	14,3	1,4	0,0	0,1	2,2	71,1	9,6	0,4	0,6	0,3	0,1	0,1	0,01	0,01
			3	0,01	14,2	1,4	0,0	0,1	2,1	71,3	9,5	0,3	0,6	0,3	0,1	0,1	0,01	0,01
		Prensas	1	0,01	14,4	1,5	0,1	0,1	2,4	70,1	9,9	0,4	0,7	0,3	0,1	0,1	0,00	0,01
			2	0,01	14,4	1,5	0,1	0,1	2,5	70,2	9,8	0,4	0,7	0,3	0,1	0,1	0,01	0,01
			3	0,01	14,4	1,4	0,0	0,1	2,2	70,7	9,7	0,4	0,7	0,3	0,1	0,1	0,02	0,01
	Cobrançosa	Duas Fases	1	0,01	15,0	1,7	0,1	0,2	3,0	68,9	9,4	0,4	0,8	0,2	0,1	0,1	0,02	0,01
			2	0,01	14,7	1,6	0,1	0,2	3,1	69,1	9,5	0,4	0,8	0,3	0,1	0,1	0,01	0,01
			3	0,01	15,1	1,6	0,1	0,2	3,6	66,3	11,4	0,4	0,9	0,2	0,1	0,1	0,02	0,01
		Prensas	1	0,01	15,5	1,6	0,1	0,2	4,1	63,6	13,0	0,4	1,0	0,2	0,1	0,1	0,01	0,01
			2	0,01	15,5	1,6	0,1	0,2	4,1	63,0	13,6	0,5	1,0	0,2	0,1	0,1	0,01	0,01
			3	0,01	14,9	1,5	0,1	0,2	4,0	60,6	13,1	4,3	1,0	0,2	0,1	0,1	0,01	0,01
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	0,01	14,3	2,1	0,1	0,3	1,9	76,1	3,9	0,3	0,6	0,2	0,1	0,0	0,01	0,00
			2	0,01	14,3	2,1	0,1	0,3	1,9	76,0	3,9	0,3	0,6	0,3	0,1	0,0	0,01	0,00
			3	0,01	14,1	2,0	0,1	0,3	1,9	76,1	3,9	0,3	0,7	0,3	0,1	0,0	0,01	0,00
		Prensas	1	0,01	14,2	1,7	0,1	0,2	2,2	73,0	7,2	0,3	0,7	0,3	0,1	0,1	0,01	0,01
			2	0,01	13,0	1,6	0,1	0,2	2,1	75,1	6,6	0,3	0,7	0,3	0,1	0,1	0,01	0,01
			3	0,01	14,2	1,9	0,1	0,3	2,0	74,8	5,3	0,3	0,7	0,3	0,1	0,0	0,01	0,00

Tendo por base o Regulamento (CE) N.º 1989/2003:

- Para o **Azeite Virgem Extra** e para o **Azeite Virgem** os valores referência são os seguintes:

Ácido Mirístico (C14:0) $\leq 0,05$; Ácido palmítico (C16:0) 7,5 — 20,0; Ácido palmitoléico (C16:1) 0,3 — 3,5; Ácido Margárico (C17:0); Ácido heptadecenoico (C17:1) $\leq 0,3$; Ácido esteárico (C18:0) 0,5 — 5,0; Ácido Oleico (C18:1) 55,0 — 83,0; Ácido linoléico (C18:2) 3,5 — 21,0; Ácido Araquídico (C20:0) $\leq 0,6$; Ácido Linolénico (C18:3) $\leq 1,0$; Ácido Eicosenoico (C20:1) $\leq 0,4$; Ácido Beénico (C22:0) $\leq 0,2$; Ácido Lignocérico (C24:0) $\leq 0,2$; Soma dos isómeros *transoleicos* (T C18:1) $\leq 0,05$; Soma dos isómeros *translinoleicos* + *translinolénicos* (T C18:2 + C18:3) $\leq 0,05$ de realçar que

Tendo por base o Regulamento (CEE) N.º 2568/91 esta soma tem de ser inferior a 1,0.

- Para o **Azeite Lampante** os valores referência são os seguintes:

Soma dos isómeros *transoleicos* (C16:1) $\leq 0,10$; Soma dos isómeros *translinoleicos* + *translinolénicos* (C18:1 + C18:2) $\leq 0,10$

- Para **Azeite constituído por azeites refinados e azeites virgens** os valores referência são os seguintes:

Soma dos isómeros *transoleicos* (C16:1) $\leq 0,20$; Soma dos isómeros *translinoleicos* + *translinolénicos* (C18:1 + C18:2) $\leq 0,30$

T - *trans*

Quadro 6.13
Valores obtidos e respectivas classificações para os triacilglicerídeos (em %)
dos diversos azeites (Regulamento (CE) N.º 1989/2003)

Ano	Variedade	Extracção	Repetição	LLL	OLLn	PLLn	OLL	OOLn	PoOL	PLL	POLn	OOL + LnPP + PoOO	POL + StLL	PPoO + PPL	OOO	POO	PPO	PPP	StOO + StOSt	PSiO	PPSt
2001	Carrasqueira	Duas Fases	1	0,1	0,29	0,08	1,94	1,34	0,49	0,63	0,12	12,98	6,03	0,91	40,13	22,93	3,27	0,34	6,75	1,65	0,44
			2	0,2	0,34	0,12	2,82	1,33	0,65	0,63	0,08	16,35	8,71	0,88	34,45	24,18	4,29	0,57	3,36	0,87	0,24
			3	0,1	0,31	0,10	2,38	1,33	0,57	0,63	0,10	14,67	7,37	0,89	37,29	23,56	3,78	0,45	5,06	1,26	0,34
		Prensas	1	0,1	0,29	0,07	2,43	1,48	0,55	0,63	0,09	14,96	7,42	0,84	37,68	23,83	3,50	0,16	4,35	1,03	0,55
			2	0,1	0,27	0,06	2,57	1,28	0,75	0,67	0,12	15,46	8,13	0,79	36,32	23,88	3,84	0,21	4,29	1,11	0,11
			3	0,1	0,28	0,07	2,50	1,38	0,65	0,65	0,11	15,21	7,78	0,81	37,00	23,85	3,67	0,19	4,32	1,07	0,33
	Cobrançosa	Duas Fases	1	0,1	0,24	0,07	1,76	1,29	0,43	0,60	0,11	13,10	6,01	0,89	39,62	22,68	3,07	0,29	7,62	1,79	0,34
			2	0,2	0,34	0,10	2,49	1,42	0,58	0,65	0,08	16,06	8,46	1,08	34,86	23,71	3,70	0,16	3,93	0,95	1,27
			3	0,1	0,29	0,09	2,13	1,35	0,51	0,63	0,09	14,58	7,23	0,98	37,24	23,20	3,38	0,23	5,78	1,37	0,80
		Prensas	1	0,2	0,37	0,14	2,61	1,49	0,68	0,91	0,38	16,09	8,64	1,11	35,15	23,63	3,79	0,13	3,67	0,89	0,15
			2	0,1	0,28	0,09	1,95	1,43	0,40	0,63	0,14	13,05	6,04	1,00	40,08	22,67	2,98	0,29	6,70	1,64	0,50
			3	0,1	0,32	0,11	2,28	1,46	0,54	0,77	0,26	14,57	7,34	1,05	37,62	23,15	3,39	0,21	5,18	1,27	0,32
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	0,1	0,32	0,10	0,82	2,23	0,96	0,00	0,14	12,12	5,70	0,61	39,63	28,30	4,72	0,22	3,06	0,87	0,13
			2	0,1	0,30	0,08	0,80	2,15	0,97	0,00	0,13	12,29	6,38	1,08	38,34	28,15	4,88	0,41	3,01	0,85	0,11
			3	0,1	0,31	0,09	0,81	2,19	0,97	0,00	0,13	12,21	6,04	0,85	38,98	28,22	4,80	0,32	3,04	0,86	0,12
		Prensas	1	0,1	0,29	0,10	1,51	2,08	0,86	0,00	0,16	13,22	6,64	1,06	38,24	26,33	4,31	0,23	3,75	0,93	0,20
			2	0,1	0,32	0,11	1,34	2,11	0,85	0,00	0,14	12,91	6,48	1,04	38,85	26,60	4,29	0,11	3,62	0,95	0,19
			3	0,1	0,30	0,11	1,42	2,09	0,85	0,00	0,15	13,07	6,56	1,05	38,54	26,47	4,30	0,17	3,68	0,94	0,20
2002	Carrasqueira	Duas Fases	1	0,1	0,34	0,05	1,86	1,46	0,44	0,59	0,04	14,62	7,18	0,88	39,13	24,28	3,54	0,06	3,87	1,07	0,53
			2	0,1	0,44	0,07	1,84	1,40	0,45	0,63	0,05	14,36	7,02	0,78	38,42	25,09	3,99	0,12	3,66	0,97	0,60
			3	0,1	0,66	0,08	1,91	1,65	0,47	0,85	0,35	13,99	7,04	0,85	37,56	25,45	4,01	0,12	3,67	0,88	0,36
		Prensas	1	0,0	0,30	0,06	1,75	1,38	0,40	0,63	0,04	14,34	6,73	0,44	39,78	25,77	3,76	0,02	3,75	0,84	0,79
			2	0,1	0,42	0,08	1,83	1,34	0,38	0,57	0,05	14,56	7,33	0,68	38,66	25,17	3,68	0,30	3,78	1,09	0,55
			3	0,1	0,51	0,07	1,81	1,42	0,32	0,61	0,05	14,53	7,26	0,74	38,88	25,21	3,82	0,05	3,54	1,03	0,41
	Cobrançosa	Duas Fases	1	0,2	0,50	0,10	2,86	1,48	0,87	0,70	0,07	14,61	7,74	0,70	33,82	24,92	4,41	0,13	5,01	1,42	0,48
			2	0,2	0,53	0,08	2,91	1,49	0,82	0,66	0,06	14,31	7,63	0,65	34,36	24,97	4,17	0,10	4,94	1,61	0,50
			3	0,2	0,51	0,07	2,92	1,51	0,88	0,69	0,11	14,67	7,36	0,85	34,43	24,79	4,07	0,07	5,22	1,68	0
		Prensas	1	0,2	0,48	0,11	3,25	1,63	1,17	0,83	0,14	15,00	8,46	0,94	32,16	24,07	4,12	0,17	5,42	1,85	0,37
			2	0,2	0,45	0,11	3,09	1,50	1,04	0,67	0,10	14,60	8,08	0,85	33,22	24,17	4,02	0,15	5,86	1,94	0,72
			3	0,2	0,47	0,11	3,13	1,57	1,07	0,77	0,13	14,80	8,56	1,18	32,66	23,55	3,98	0,13	5,83	1,81	0,63
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	0,1	0,40	0,07	1,40	1,55	0,35	0,76	0,13	11,71	5,86	0,88	40,21	26,80	4,33	0,19	4,05	1,19	0
			2	0,1	0,49	0,05	1,26	1,47	0,28	0,60	0,06	11,43	5,80	1,02	40,51	26,88	4,47	0,31	4,08	1,18	0
			3	0,1	0,41	0,10	0,98	1,49	0,25	0,73	0,16	10,92	5,46	0,98	41,38	27,25	4,46	0,21	3,78	0,99	0,35
		Prensas	1	0,1	0,34	0,03	0,72	1,68	0	0,71	0,09	9,90	4,66	0,94	43,34	28,17	4,49	0,12	3,67	1,10	0,64
			2	0,1	0,33	0,03	0,06	0,64	0	1,64	0,81	10,15	4,73	0,79	43,31	28,29	4,62	0,04	3,53	0,98	0,25
			3	0,0	0,29	0,02	0,55	1,39	0	0,70	0,11	10,10	4,56	0,78	43,98	28,75	4,57	0,13	3,57	0,47	0
2003	Carrasqueira	Duas Fases	1	0,1	0,23	0,08	0,97	1,72	0,69	0	0,11	11,09	5,11	0,78	42,21	26,87	4,32	0,24	3,73	1,07	0,69
			2	0,1	0,14	0,02	1,10	0,89	0,32	0,51	0,08	10,49	5,57	0,46	41,17	27,23	4,40	0,12	5,20	1,31	0,93
			3	0,1	0,27	0,07	1,91	1,34	0,49	0,61	0,06	14,26	6,85	0,42	38,70	24,87	3,85	0,10	4,38	1,16	0,60
		Prensas	1	0,2	0,36	0,11	2,20	1,51	0,60	0,73	0,11	14,25	7,69	0,90	37,09	24,73	4,07	0,13	4,11	1,18	0,07
			2	0,0	0,36	0,11	2,19	1,50	0,60	0,72	0,11	14,17	7,65	0,89	36,89	24,59	4,05	0,13	4,09	1,17	0,75
			3	0,2	0,33	0,11	2,10	1,40	0,58	0,69	0,13	14,20	7,33	0,90	36,90	24,58	3,98	0,20	4,54	1,33	0,58
	Cobrançosa	Duas Fases	1	0,2	0,35	0,12	2,58	1,41	0,67	0,66	0,10	15,80	8,28	0,75	35,90	24,43	3,89	0,06	3,82	0,98	0,05
			2	0,2	0,42	0,14	2,34	1,47	0,86	0,84	0,17	13,56	7,93	1,08	34,94	25,18	4,43	0,26	4,50	1,40	0,27
			3	0,3	0,53	0,22	2,79	1,58	0,92	0,86	0,16	14,16	8,62	1,32	32,76	24,64	4,51	0,20	4,53	1,50	0,37

Quadro 6.13 (conclusão)
Valores obtidos e respectivas classificações para os triacilglicerídeos (em %)
dos diversos azeites (Regulamento (CE) N.º 1989/2003)

		Extracção	Repetição	LLL	OLLn	PLLn	OLL	OOLn	PoOL	PLL	POLn	OOL + LnPP + PoOO	POL + StLL	PPoO + PPL	OOO	POO	PPO	PPP	StOO + StOS	PStO	PPSt
2004	Galega Vulgar	Prensas	1	0,4	0,63	0,27	3,88	1,65	1,69	1,04	0,19	15,37	11,41	1,29	27,42	23,57	4,74	0,15	4,32	1,62	0,36
			2	0,4	0,66	0,30	3,83	1,64	1,61	1,06	0,21	15,52	10,81	1,56	27,68	23,65	4,81	0,17	4,24	1,58	0,25
			3	0,4	0,66	0,32	3,65	1,72	1,52	1,14	0,32	15,13	10,78	1,42	27,79	23,19	4,90	0,45	4,70	1,57	0,36
		Duas Fases	1	0,1	0,24	0,07	1,10	1,75	0,69	0	0,16	11,56	5,49	0,96	41,72	26,77	4,37	0,18	3,60	1,04	0,22
			2	0,1	0,24	0,07	1,04	1,72	0,69	0	0,13	11,43	5,53	0,98	41,67	26,94	4,37	0,20	3,62	1,05	0,24
			3	0,1	0,31	0,08	2,01	1,37	0,53	0,66	0,08	14,30	6,98	0,43	38,56	24,90	3,90	0,23	4,19	1,10	0,23
		Prensas	1	0,3	0,11	0,01	0,58	1,71	0,76	0	0,15	10,14	4,80	1,04	42,79	27,67	4,68	0,33	3,62	1,07	0,27
			2	0,2	0,05	0,07	0,48	1,61	0,62	0	0,07	10,38	5,15	0,66	43,69	27,66	4,43	0,24	3,54	1,01	0,16
			3	0,2	0,26	0,06	0,45	1,60	0,67	0	0,11	9,97	4,56	0,98	44,23	27,71	4,43	0,18	3,43	1,02	0,16
	Carrasqueira	Duas Fases	1	0,1	0,29	0,08	2,64	0,85	0,81	0,56	0,07	15,51	8,99	1,03	33,88	26,47	4,20	0,07	3,54	0,85	0,05
			2	0,3	0,33	0,10	2,71	1,16	0,86	0,66	0,07	15,02	8,03	0,58	34,15	26,80	4,34	0,05	3,64	1,03	0,21
			3	0,3	0,31	0,07	2,59	1,33	0,84	0,79	0,12	15,11	8,71	1,02	33,55	26,06	4,28	0,06	3,75	0,94	0,21
		Prensas	1	0,1	0,31	0,09	2,52	1,18	0,69	0,72	0,10	15,63	8,96	1,51	33,87	25,65	4,25	0,06	3,19	0,80	0,40
			2	0,1	0,23	0,04	2,60	1,09	0,79	0,57	0,08	15,69	8,81	0,75	34,48	25,84	3,84	0,04	3,79	1,06	0,18
			3	0,1	0,24	0,04	2,40	1,14	0,58	0,59	0,09	15,56	8,35	0,91	35,01	26,07	4,20	0,02	3,61	0,88	0,23
	Cobrançosa	Duas Fases	1	0,2	0,33	0,11	2,53	1,20	0,87	0,73	0,09	13,21	8,27	1,30	33,70	26,31	4,73	0,16	4,37	1,68	0,25
			2	0,1	0,31	0,09	2,44	1,31	0,87	0,78	0,13	13,39	8,37	1,23	33,45	26,26	4,76	0,16	4,46	1,57	0,28
			3	0,2	0,46	0,19	3,24	1,27	1,26	0,87	0,14	14,31	9,74	1,45	29,73	25,93	4,78	0,08	4,68	1,38	0,28
		Prensas	1	0,3	0,46	0,16	3,81	1,13	1,53	0,97	0,17	15,00	10,64	1,58	26,88	25,12	5,03	0,10	4,84	2,07	0,24
			2	0,3	0,56	0,21	4,16	1,12	1,80	1,00	0,18	15,12	10,97	1,54	25,75	24,50	5,11	0,15	5,22	2,09	0,22
			3	0,3	0,54	0,24	4,00	1,09	1,79	0,94	0,20	15,10	11,14	1,66	25,47	24,76	5,20	0,17	4,93	2,19	0,28
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	0,2	0,06	0,03	0,43	1,64	0,00	0,69	0,11	10,13	5,11	1,05	42,25	28,83	4,54	0,13	3,54	0,88	0,37
			2	0,1	0,14	0,18	0,46	1,72	0,00	0,77	0,20	10,08	5,00	1,00	42,34	28,43	4,50	0,19	3,53	1,06	0,36
			3	0,0	0,21	0,07	0,48	1,80	0,00	0,79	0,14	9,98	5,14	1,05	41,83	28,61	4,61	0,15	3,55	0,96	0,60
		Prensas	1	0,1	0,28	0,15	1,62	1,50	0,47	0,79	0,16	12,74	6,86	1,10	37,83	26,60	4,23	0,12	4,09	1,01	0,36
			2	0,1	0,24	0,11	1,35	1,29	0,34	0,68	0,10	12,20	6,63	1,20	39,03	27,20	4,37	0,20	3,65	1,00	0,35
			3	0,1	0,23	0,08	0,96	1,58	0,36	0,82	0,15	11,31	5,97	1,10	40,52	27,79	4,43	0,07	3,47	0,94	0,15

Em que: Po - Ácido Palmitoleico; P - Ácido Palmítico; S - Ácido Esteárico; O - Ácido Oléico;
L - Ácido Linolénico; Ln - Ácido Linolénico

Tendo por base o Regulamento (CEE) N.º 2568/91:

- Para o **Azeite Virgem Extra** e para o **Azeite Virgem** o valores referência para a trilinoleína ou Ácido Mirístico (C14:0) < 0,05 %.

Polifenóis

Quadro 6.14
Valores obtidos para os polifenóis, azeites
(Regulamento (CE) N.º 1989/2003)

Ano	Variedade	Extracção	Repetição	Polifenóis (em ppm)
2001	Carrasquenha	Duas Fases	1	47
			2	45
			3	46
		Prensas	1	29
			2	29
			3	29
	Cobrançosa	Duas Fases	1	70
			2	52
			3	61
		Prensas	1	56
			2	52
			3	54
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	20
			2	24
			3	22
		Prensas	1	17
			2	19
			3	18
2002	Carrasquenha	Duas Fases	1	45
			2	73
			3	66
		Prensas	1	182
			2	185
			3	185
	Cobrançosa	Duas Fases	1	73
			2	86
			3	77
		Prensas	1	30
			2	51
			3	68
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	70
			2	60
			3	63
		Prensas	1	48
			2	45
			3	35
2003	Carrasquenha	Duas Fases	1	51
			2	68
			3	90
		Prensas	1	88
			2	129
			3	133

Quadro 6.14 (conclusão)

Valores obtidos para os polifenóis, azeites (Regulamento (CE) N.º 1989/2003)

	Variedade	Extracção	Repetição	Polifenóis (em ppm)
	Cobrançosa	Duas Fases	1	96
			2	121
			3	119
		Prensas	1	53
			2	45
			3	51
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	103
			2	115
			3	115
		Prensas	1	70
			2	91
			3	81
2004	Carrasquenha	Duas Fases	1	149
			2	175
			3	142
		Prensas	1	45
			2	91
			3	86
	Cobrançosa	Duas Fases	1	31
			2	26
			3	41
		Prensas	1	72
			2	83
			3	77
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	63
			2	68
			3	61
		Prensas	1	38
			2	46
			3	34

Tocoferóis

Quadro 6.15
Valores obtidos para os tocoferóis, azeites.

Ano	Variedade	Extracção	Repetição	Tocoferóis Gama (em ppm)	Tocoferóis Alfa (em ppm)
2001	Carrasqueira	Duas Fases	1	5,90	133,69
			2	8,32	120,82
			3	7,11	127,25
		Prensas	1	8,31	120,77
			2	4,76	140,83
			3	6,54	130,80
	Cobrançosa	Duas Fases	1	14,73	181,42
			2	9,14	151,47
			3	11,94	166,44
		Prensas	1	10,49	134,18
			2	16,54	137,30
			3	13,52	135,74
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	25,80	304,07
			2	28,79	259,27
			3	27,30	281,67
		Prensas	1	22,96	187,70
			2	25,02	290,59
			3	23,99	239,14
2002	Carrasqueira	Duas Fases	1	2,44	164,47
			2	2,82	168,39
			3	2,65	166,50
		Prensas	1	6,13	169,10
			2	8,53	179,75
			3	7,74	176,54
	Cobrançosa	Duas Fases	1	9,56	235,98
			2	9,08	225,20
			3	10,77	235,71
		Prensas	1	10,10	209,55
			2	9,17	210,47
			3	9,35	209,57
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	14,03	249,62
			2	14,50	247,41
			3	16,24	236,64
		Prensas	1	11,29	217,94
			2	10,73	210,74
			3	12,05	218,63
2003	Carrasqueira	Duas Fases	1	6,22	194,34
			2	7,47	185,99
			3	11,21	214,58
		Prensas	1	3,90	253,50

Quadro 6.15 (conclusão)
Valores obtidos para os tocoferóis, azeites.

Ano	Variedade	Extracção	Repetição	Tocoferóis Gama (em ppm)	Tocoferóis Alfa (em ppm)
2004	Cobrançosa		2	3,16	162,99
			3	3,56	154,34
		Duas Fases	1	14,43	398,86
			2	17,78	415,50
			3	15,25	322,68
		Prensas	1	8,36	116,25
			2	10,22	59,40
			3	9,76	74,22
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	17,42	261,96
			2	10,25	206,77
			3	14,50	269,64
		Prensas	1	10,29	207,29
			2	10,54	204,21
			3	5,24	192,97
	Carrasquenha	Duas Fases	1	3,36	157,69
			2	4,70	149,98
			3	3,50	156,52
		Prensas	1	6,89	125,58
			2	5,80	153,45
			3	4,53	161,89
	Cobrançosa	Duas Fases	1	10,30	99,84
			2	8,53	126,85
			3	10,96	208,73
		Prensas	1	12,92	300,80
			2	10,64	282,17
			3	10,67	278,23
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	16,83	239,23
			2	19,38	253,24
			3	20,80	289,50
		Prensas	1	13,13	180,34
			2	15,72	190,46
			3	19,93	226,01

Ceras

Quadro 6.16

Valores obtidos para as ceras (mg/kg), azeites (Regulamento (CE) N.º 1989/2003)

Ano	Variedade	Extracção	Repetição	C 40 (mg/kg)	C 42 (mg/kg)	C 44 (mg/kg)	C 46 (mg/kg)	Total Ceras (mg/kg)
2001	Carrasquenha	Duas Fases	1	41	31	21	17	109
			2	35	24	16	12	89
			3	38	28	19	15	99
		Prensas	1	30	30	27	16	103
			2	33	28	22	15	98
			3	31	29	25	16	100
	Cobrançosa	Duas Fases	1	7	38	20	20	85
			2	35	23	19	16	93
			3	21	30	20	18	89
		Prensas	1	32	25	20	18	94
			2	18	28	28	19	92
			3	25	26	24	18	93
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	25	35	30	23	113
			2	32	44	39	28	144
			3	28	40	35	26	128
		Prensas	1	23	33	31	21	108
			2	28	40	29	23	120
			3	26	36	30	22	114
2002	Carrasquenha	Duas Fases	1	28	20	12	13	71
			2	26	19	12	12	69
			3	29	21	11	13	74
		Prensas	1	20	11	5	10	45
			2	20	12	5	10	47
			3	26	14	6	10	56
	Cobrançosa	Duas Fases	1	20	19	12	14	66
			2	18	18	12	13	62
			3	20	19	13	14	65
		Prensas	1	16	15	7	13	50
			2	15	13	5	11	44
			3	15	13	7	12	47
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	14	19	10	12	55
			2	16	20	11	13	60
			3	12	19	9	12	52
		Prensas	1	14	22	10	10	56
			2	11	19	8	11	48
			3	10	19	9	9	47
2003	Carrasque nha	Duas Fases	1	27	15	7	15	63
			2	29	19	7	15	69
			3	31	23	7	14	75
		Prensas	1	15	42	30	24	112

Quadro 6.16 (conclusão)

Valores obtidos para as ceras (mg/kg), azeites (Regulamento (CE) N.º 1989/2003)

Ano	Variedade	Extracção	Repetição	C 40 (mg/kg)	C 42 (mg/kg)	C 44 (mg/kg)	C 46 (mg/kg)	Total Ceras (mg/kg)
2004	Cobrançosa		2	22	29	33	12	96
			3	13	23	24	19	79
		Duas Fases	1	43	40	26	14	123
			2	41	61	44	26	171
			3	45	73	41	24	182
		Prensas	1	27	34	14	12	86
			2	24	30	13	17	84
			3	22	27	14	17	79
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	26	46	38	65	174
			2	15	25	27	21	88
			3	30	26	23	19	99
		Prensas	1	7	14	10	13	45
			2	7	12	7	13	40
			3	6	12	7	12	38
2004	Carrasquenha	Duas Fases	1	20	20	19	13	72
			2	19	20	20	15	74
			3	22	19	16	12	69
		Prensas	1	20	10	7	8	45
			2	18	12	7	7	44
			3	20	11	7	8	45
	Cobrançosa	Duas Fases	1	13	19	10	13	55
			2	14	21	9	14	58
			3	14	23	9	13	59
		Prensas	1	16	26	32	19	93
			2	16	27	29	19	92
			3	18	28	26	20	91
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	8	18	8	12	48
			2	11	18	8	14	51
			3	11	18	10	15	55
		Prensas	1	18	22	23	17	79
			2	16	23	23	17	78
			3	14	21	18	16	70

Tendo por base o Regulamento (CE) N.º 1989/2003:

- Para o Azeite Virgem Extra o teor de Ceras totais (mg/kg) não superior a 250mg /kg

Álcoois Alifáticos

Quadro 6.17

Valores obtidos para os álcoois alifáticos (em mg/100g de azeite), azeites (Regulamento (CE) N.º 1989/2003)

Ano	Variedade	Extracção	Repetição	Docosanol	Tricosanol	Tetracosanol	Hexacosanol	Heptacosanol	Octacosanol	Álcoois Alifáticos Totais (em mg/100g de azeite)
2001	Carrasqueira	Duas Fases	1	41,68	5,91	0,00	10,26	0,29	9,97	68,11
			2	58,88	5,27	0,00	13,81	0,36	10,72	89,04
			3	50,28	5,59	0,00	12,03	0,32	10,35	78,57
		Prensas	1	4,79	0,32	0,00	0,81	0,00	0,20	6,12
			2	7,00	0,57	0,00	1,29	0,00	3,54	12,41
			3	5,89	0,45	0,00	1,05	0,00	1,87	9,26
	Cobrançosa	Duas Fases	1	21,70	2,15	0,00	4,82	0,68	0,00	29,36
			2	16,69	1,86	0,00	3,09	0,36	0,00	22,00
			3	19,20	2,01	0,00	3,96	0,52	0,00	25,68
		Prensas	1	5,82	0,37	0,87	0,45	0,06	0,06	7,64
			2	5,64	0,43	0,74	0,59	0,12	0,10	7,61
			3	5,73	0,40	0,81	0,52	0,09	0,08	7,63
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	10,44	0,68	1,26	1,95	0,19	0,16	14,67
			2	20,07	1,37	2,12	4,19	0,47	0,28	28,51
			3	15,25	1,03	1,69	3,07	0,33	0,22	21,59
		Prensas	1	27,96	1,62	0,40	6,60	1,34	0,00	37,92
			2	10,89	0,93	1,58	1,93	0,30	0,00	15,62
			3	19,42	1,27	0,99	4,26	0,82	0,00	26,77
2002	Carrasqueira	Duas Fases	1	49,72	2,50	0,00	0,00	1,30	0,00	53,52
			2	45,07	2,93	0,00	0,00	2,06	0,00	50,06
			3	55,80	2,81	0,00	0,00	1,36	0,00	59,98
		Prensas	1	66,18	2,95	0,00	0,00	1,19	0,00	70,31
			2	50,06	1,86	2,41	1,20	0,95	0,68	57,15
			3	33,93	0,77	4,83	2,40	0,70	1,36	43,99
	Cobrançosa	Duas Fases	1	24,85	1,99	12,58	10,80	0,00	2,56	52,78
			2	30,64	2,10	17,79	15,98	0,00	3,39	69,90
			3	19,06	1,87	7,37	5,63	0,00	1,72	35,66
		Prensas	1	19,25	1,59	3,83	2,84	0,00	9,72	37,22
			2	10,15	2,30	5,52	4,55	3,97	0,67	27,17
			3	21,75	6,23	19,60	16,83	4,42	1,88	70,70
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	9,88	12,32	9,48	0,00	12,32	5,57	49,57
			2	7,14	0,61	4,74	3,93	0,52	0,00	16,95
			3	2,92	0,54	2,36	1,67	0,34	0,00	7,83
		Prensas	1	5,81	0,48	3,28	1,98	0,45	0,00	12,00
			2	8,30	0,78	4,79	4,12	0,42	0,00	18,41
			3	13,83	1,27	4,25	3,23	1,35	0,00	23,92
2003	Carrasqueira	Duas Fases	1	32,55	0,99	2,98	8,52	0,00	0,33	45,37
			2	98,80	1,11	6,66	25,51	0,00	0,91	133,00
			3	123,86	1,84	6,83	32,26	0,00	1,34	166,13
		Prensas	1	77,54	3,28	1,26	18,19	0,61	0,00	100,88

Quadro 6.17 (conclusão)
Valores obtidos para os álcoois alifáticos, azeites (Regulamento (CE) N.º 1989/2003)

2004			Repetição	Docosanol	Tricosanol	Tetracosanol	Hexacosanol	Heptacosanol	Octacosanol	Álcoois Alifáticos Totais (em mg/100g de azeite)
			2	51,73	2,03	1,48	12,26	0,43	0,00	67,92
			3	33,41	1,65	1,29	7,04	0,44	0,00	43,84
	Cobrançosa	Duas Fases	1	40,43	2,76	3,32	5,43	1,35	0,00	53,29
			2	6,98	0,22	1,24	1,35	0,06	0,00	9,85
			3	11,57	0,86	1,14	1,67	0,09	0,14	15,46
		Prensas	1	7,38	0,11	0,67	1,93	0,00	0,23	10,33
			2	32,95	1,42	2,03	9,22	0,00	1,00	46,61
			3	14,59	0,50	1,60	2,32	0,00	0,72	19,72
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	24,88	0,90	1,62	3,16	0,14	0,00	30,70
			2	8,14	0,16	0,61	2,16	0,07	0,05	11,19
			3	38,26	1,20	2,37	10,67	0,38	0,30	53,18
		Prensas	1	9,08	0,23	0,75	2,03	0,10	0,08	12,28
			2	11,44	0,41	0,97	2,64	0,07	0,07	15,60
			3	5,82	0,15	1,18	1,13	0,05	0,06	8,38
	Carrasqueira	Duas Fases	1	5,25	3,82	7,00	11,87	5,11	0,00	33,06
			2	1,95	0,11	0,93	1,16	0,07	0,03	4,25
			3	5,98	3,34	11,19	15,24	5,43	0,35	41,53
		Prensas	1	7,32	1,93	12,77	18,07	0,00	0,00	40,09
			2	6,36	4,26	9,55	28,18	0,68	0,00	49,03
			3	1,89	0,13	1,24	1,74	0,01	0,00	5,01
	Cobrançosa	Duas Fases	1	0,00	0,11	1,28	2,87	0,08	0,10	4,43
			2	0,00	0,11	1,32	3,11	0,08	0,12	4,73
			3	0,00	0,11	1,25	2,63	0,08	0,08	4,14
		Prensas	1	2,92	0,18	2,01	3,95	0,19	0,07	9,32
			2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
			3	1,75	0,12	1,25	2,49	0,07	0,05	5,73
	Galega Vulgar	Duas Fases	1	1,55	0,08	1,19	1,49	0,06	0,05	4,42
			2	3,98	0,31	3,84	4,62	0,29	0,12	13,16
			3	1,66	0,09	1,40	1,93	0,07	0,07	5,22
		Prensas	1	11,94	1,66	15,65	27,42	34,38	5,90	96,94
			2	6,99	2,73	25,10	44,84	71,68	16,33	167,67
			3	3,14	2,64	3,30	26,05	74,34	8,19	117,67

Tendo por base o Regulamento (CE) N.º 1989/2003:

- Para o Azeite Virgem Extra o teor de Álcoois alifáticos totais não superior a 300mg /kg

Anexo X

Análise estatística, critérios de pureza.

Esteróis e álcoois triterpénicos

Quadro 6.18

Análise de comparação ANOVA, teste de Tukey para os vários esteróis e álcoois triterpénicos, para a variedade Carrasquenha, para a interacção Ano*Extracção.

Tukey HSD test; variable Colesterol (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = ,00357, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,3857	0,9752	0,6452	0,8884	0,9996	0,1027	0,2700
2	2001	Prensas	0,3857		0,8951	0,9997	0,9776	0,6559	0,9877	1,0000
3	2002	Duas Fases	0,9752	0,8951		0,9893	1,0000	0,9996	0,4453	0,7824
4	2002	Prensas	0,6452	0,9997	0,9893		0,9996	0,8869	0,8877	0,9955
5	2003	Duas Fases	0,8884	0,9776	1,0000	0,9996		0,9893	0,6441	0,9245
6	2003	Prensas	0,9996	0,6559	0,9996	0,8869	0,9893		0,2271	0,5069
7	2004	Duas Fases	0,1027	0,9877	0,4453	0,8877	0,6441	0,2271		0,9986
8	2004	Prensas	0,2700	1,0000	0,7824	0,9955	0,9245	0,5069	0,9986	

Tukey HSD test; variable Campesterol (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = ,00665, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,6657	0,0570	0,0076	0,0182	0,0900	0,9997	0,9988
2	2001	Prensas	0,6657		0,7134	0,1901	0,3720	0,8426	0,8943	0,9322
3	2002	Duas Fases	0,0570	0,7134		0,9584	0,9984	1,0000	0,1300	0,1588
4	2002	Prensas	0,0076	0,1901	0,9584		0,9998	0,8857	0,0185	0,0232
5	2003	Duas Fases	0,0182	0,3720	0,9984	0,9998		0,9867	0,0438	0,0546
6	2003	Prensas	0,0900	0,8426	1,0000	0,8857	0,9867		0,1973	0,2376
7	2004	Duas Fases	0,9997	0,8943	0,1300	0,0185	0,0438	0,1973		1,0000
8	2004	Prensas	0,9988	0,9322	0,1588	0,0232	0,0546	0,2376	1,0000	

Tukey HSD test; variable Estigmasterol (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = ,01301, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,6388	0,3102	0,1168	0,3102	0,2123	0,0245	0,3835
2	2001	Prensas	0,6388		0,0130	0,0040	0,0130	0,0080	0,0009	0,0174
3	2002	Duas Fases	0,3102	0,0130		0,9982	1,0000	1,0000	0,8204	1,0000
4	2002	Prensas	0,1168	0,0040	0,9982		0,9982	0,9999	0,9873	0,9930
5	2003	Duas Fases	0,3102	0,0130	1,0000	0,9982		1,0000	0,8204	1,0000
6	2003	Prensas	0,2123	0,0080	1,0000	0,9999	1,0000		0,9199	0,9999
7	2004	Duas Fases	0,0245	0,0009	0,8204	0,9873	0,8204	0,9199		0,7407
8	2004	Prensas	0,3835	0,0174	1,0000	0,9930	1,0000	0,9999	0,7407	

Tukey HSD test; variable sitosterol aparente (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = ,06741, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,1046	0,5736	0,5458	0,9566	1,0000	0,9998	1,0000
2	2001	Prensas	0,1046		0,9308	0,9434	0,5117	0,1246	0,0474	0,1178
3	2002	Duas Fases	0,5736	0,9308		1,0000	0,9882	0,6333	0,3378	0,6140
4	2002	Prensas	0,5458	0,9434	1,0000		0,9839	0,6053	0,3161	0,5860

Quadro 6.18 (conclusão)

Análise de comparação ANOVA, teste de Tukey para os vários esteróis e álcoois triterpénicos, para a variedade Carrasquenha, para a interacção Ano*Extracção.

5	2003	Duas Fases	0,9566	0,5117	0,9882	0,9839		0,9742	0,8006	0,9692
6	2003	Prensas	1,0000	0,1246	0,6333	0,6053	0,9742		0,9992	1,0000
7	2004	Duas Fases	0,9998	0,0474	0,3378	0,3161	0,8006	0,9992		0,9995
8	2004	Prensas	1,0000	0,1178	0,6140	0,5860	0,9692	1,0000	0,9995	

Tukey HSD test; variable 7estigmaesterol (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = ,00277, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,9978	0,5759	0,9999	0,6220	0,8679	0,9997	0,9996
2	2001	Prensas	0,9978		0,9010	1,0000	0,9260	0,9952	1,0000	1,0000
3	2002	Duas Fases	0,5759	0,9010		0,8102	1,0000	0,9992	0,8299	0,8395
4	2002	Prensas	0,9999	1,0000	0,8102		0,8465	0,9781	1,0000	1,0000
5	2003	Duas Fases	0,6220	0,9260	1,0000	0,8465		0,9997	0,8643	0,8728
6	2003	Prensas	0,8679	0,9952	0,9992	0,9781	0,9997		0,9829	0,9851
7	2004	Duas Fases	0,9997	1,0000	0,8299	1,0000	0,8643	0,9829		1,0000
8	2004	Prensas	0,9996	1,0000	0,8395	1,0000	0,8728	0,9851	1,0000	

Tukey HSD test; variable Eritrodiol + Uvaol (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = ,03569, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,9818	0,9789	1,0000	0,0194	0,0462	0,0082	0,1964
2	2001	Prensas	0,9818		0,6142	0,9846	0,1044	0,2232	0,0460	0,6373
3	2002	Duas Fases	0,9789	0,6142		0,9754	0,0033	0,0078	0,0015	0,0379
4	2002	Prensas	1,0000	0,9846	0,9754		0,0205	0,0485	0,0086	0,2049
5	2003	Duas Fases	0,0194	0,1044	0,0033	0,0205		0,9997	0,9998	0,8960
6	2003	Prensas	0,0462	0,2232	0,0078	0,0485	0,9997		0,9815	0,9893
7	2004	Duas Fases	0,0082	0,0460	0,0015	0,0086	0,9998	0,9815		0,6746
8	2004	Prensas	0,1964	0,6373	0,0379	0,2049	0,8960	0,9893	0,6746	

Tukey HSD test; variable Esteróis Totais (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = 6611,5, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,9856	1,0000	0,9401	0,9337	0,3039	0,9401	1,0000
2	2001	Prensas	0,9856		0,9992	0,5145	1,0000	0,7776	0,5145	0,9992
3	2002	Duas Fases	1,0000	0,9992		0,8190	0,9885	0,4676	0,8190	1,0000
4	2002	Prensas	0,9401	0,5145	0,8190		0,3572	0,0440	1,0000	0,8190
5	2003	Duas Fases	0,9337	1,0000	0,9885	0,3572		0,9057	0,3572	0,9885
6	2003	Prensas	0,3039	0,7776	0,4676	0,0440	0,9057		0,0440	0,4676
7	2004	Duas Fases	0,9401	0,5145	0,8190	1,0000	0,3572	0,0440		0,8190
8	2004	Prensas	1,0000	0,9992	1,0000	0,8190	0,9885	0,4676	0,8190	

Quadro 6.19

Análise de comparação ANOVA, teste de Tukey para os vários esteróis e álcoois triterpénicos, para a variedade Cobrançosa, para a interacção Ano*Extracção.

Tukey HSD test; variable Colesterol (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = ,00557, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,0768	0,9469	0,4915	0,5875	0,2968	0,9976	0,0813
2	2001	Prensas	0,0768		0,4391	0,9215	0,8616	0,9897	0,2280	1,0000
3	2002	Duas Fases	0,9469	0,4391		0,9782	0,9928	0,8811	0,9997	0,4567
4	2002	Prensas	0,4915	0,9215	0,9782		1,0000	0,9999	0,8471	0,9309
5	2003	Duas Fases	0,5875	0,8616	0,9928	1,0000		0,9991	0,9109	0,8748
6	2003	Prensas	0,2968	0,9897	0,8811	0,9999	0,9991		0,6421	0,9918
7	2004	Duas Fases	0,9976	0,2280	0,9997	0,8471	0,9109	0,6421		0,2396
8	2004	Prensas	0,0813	1,0000	0,4567	0,9309	0,8748	0,9918	0,2396	

Tukey HSD test; variable Campesterol (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = ,00935, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,9276	0,9537	0,5303	0,8757	0,5339	0,8483	0,4531
2	2001	Prensas	0,9276		1,0000	0,0900	1,0000	0,9917	0,2365	0,9788
3	2002	Duas Fases	0,9537	1,0000		0,1079	1,0000	0,9832	0,2763	0,9629
4	2002	Prensas	0,5303	0,0900	0,1079		0,0685	0,0207	0,9988	0,0158
5	2003	Duas Fases	0,8757	1,0000	1,0000	0,0685		0,9977	0,1862	0,9923
6	2003	Prensas	0,5339	0,9917	0,9832	0,0207	0,9977		0,0614	1,0000
7	2004	Duas Fases	0,8483	0,2365	0,2763	0,9988	0,1862	0,0614		0,0472
8	2004	Prensas	0,4531	0,9788	0,9629	0,0158	0,9923	1,0000	0,0472	

Tukey HSD test; variable Estigmasterol (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = ,00966, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,1953	0,0002	0,0002	0,1224	0,9250	0,0312	0,8556
2	2001	Prensas	0,1953		0,0002	0,0002	1,0000	0,0229	0,9637	0,8807
3	2002	Duas Fases	0,0002	0,0002		0,0004	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002
4	2002	Prensas	0,0002	0,0002	0,0004		0,0002	0,0002	0,0002	0,0002
5	2003	Duas Fases	0,1224	1,0000	0,0002	0,0002		0,0134	0,9939	0,7481
6	2003	Prensas	0,9250	0,0229	0,0002	0,0002	0,0134		0,0032	0,2392
7	2004	Duas Fases	0,0312	0,9637	0,0002	0,0002	0,9939	0,0032		0,3324
8	2004	Prensas	0,8556	0,8807	0,0002	0,0002	0,7481	0,2392	0,3324	

Tukey HSD test; variable sitosterol aparente (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = ,09530, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,5031	0,0038	0,0002	0,7424	0,8115	0,1710	0,6309
2	2001	Prensas	0,5031		0,1620	0,0027	0,9999	0,9992	0,9933	1,0000
3	2002	Duas Fases	0,0038	0,1620		0,4028	0,0792	0,0622	0,4845	0,1118
4	2002	Prensas	0,0002	0,0027	0,4028		0,0013	0,0010	0,0113	0,0018
5	2003	Duas Fases	0,7424	0,9999	0,0792	0,0013		1,0000	0,9302	1,0000
6	2003	Prensas	0,8115	0,9992	0,0622	0,0010	1,0000		0,8862	1,0000
7	2004	Duas Fases	0,1710	0,9933	0,4845	0,0113	0,9302	0,8862		0,9720

Quadro 6.19 (conclusão)

Análise de comparação ANOVA, teste de Tukey para os vários esteróis e álcoois triterpénicos, para a variedade Cobrançosa, para a interacção Ano*Extracção.

8	2004	Prensas	0,6309	1,0000	0,1118	0,0018	1,0000	1,0000	0,9720	
---	------	---------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--

Tukey HSD test; variable 7estigmaesterol (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = ,00066, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,9700	0,3259	0,2014	0,8123	0,9967	1,0000	0,7616
2	2001	Prensas	0,9700		0,0630	0,0347	0,9996	1,0000	0,9903	0,9987
3	2002	Duas Fases	0,3259	0,0630		1,0000	0,0254	0,1108	0,2495	0,0210
4	2002	Prensas	0,2014	0,0347	1,0000		0,0137	0,0625	0,1493	0,0113
5	2003	Duas Fases	0,8123	0,9996	0,0254	0,0137		0,9909	0,8908	1,0000
6	2003	Prensas	0,9967	1,0000	0,1108	0,0625	0,9909		0,9996	0,9824
7	2004	Duas Fases	1,0000	0,9903	0,2495	0,1493	0,8908	0,9996		0,8508
8	2004	Prensas	0,7616	0,9987	0,0210	0,0113	1,0000	0,9824	0,8508	

Tukey HSD test; variable Eritrodiol Uvaol (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = ,07840, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,9989	0,9982	0,9981	0,9184	0,0716	0,2259	0,9812
2	2001	Prensas	0,9989		1,0000	0,9256	0,9976	0,0246	0,0864	0,8106
3	2002	Duas Fases	0,9982	1,0000		0,9127	0,9984	0,0227	0,0802	0,7897
4	2002	Prensas	0,9981	0,9256	0,9127		0,6155	0,2068	0,5212	1,0000
5	2003	Duas Fases	0,9184	0,9976	0,9984	0,6155		0,0072	0,0262	0,4474
6	2003	Prensas	0,0716	0,0246	0,0227	0,2068	0,0072		0,9968	0,3203
7	2004	Duas Fases	0,2259	0,0864	0,0802	0,5212	0,0262	0,9968		0,6919
8	2004	Prensas	0,9812	0,8106	0,7897	1,0000	0,4474	0,3203	0,6919	

Tukey HSD test; variable Esterois Totais (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = 6436,9, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,7685	0,2058	0,2131	0,3134	0,0640	0,3914	0,9786
2	2001	Prensas	0,7685		0,9473	0,9523	0,9889	0,0033	0,9970	0,9979
3	2002	Duas Fases	0,2058	0,9473		1,0000	1,0000	0,0005	0,9998	0,6701
4	2002	Prensas	0,2131	0,9523	1,0000		1,0000	0,0005	0,9998	0,6830
5	2003	Duas Fases	0,3134	0,9889	1,0000	1,0000		0,0008	1,0000	0,8203
6	2003	Prensas	0,0640	0,0033	0,0005	0,0005	0,0008		0,0010	0,0109
7	2004	Duas Fases	0,3914	0,9970	0,9998	0,9998	1,0000	0,0010		0,8897
8	2004	Prensas	0,9786	0,9979	0,6701	0,6830	0,8203	0,0109	0,8897	

Quadro 6.20

Análise de comparação ANOVA, teste de Tukey para os vários esteróis e álcoois triterpénicos, para a variedade Galega Vulgar, para a interacção Ano*Extracção.

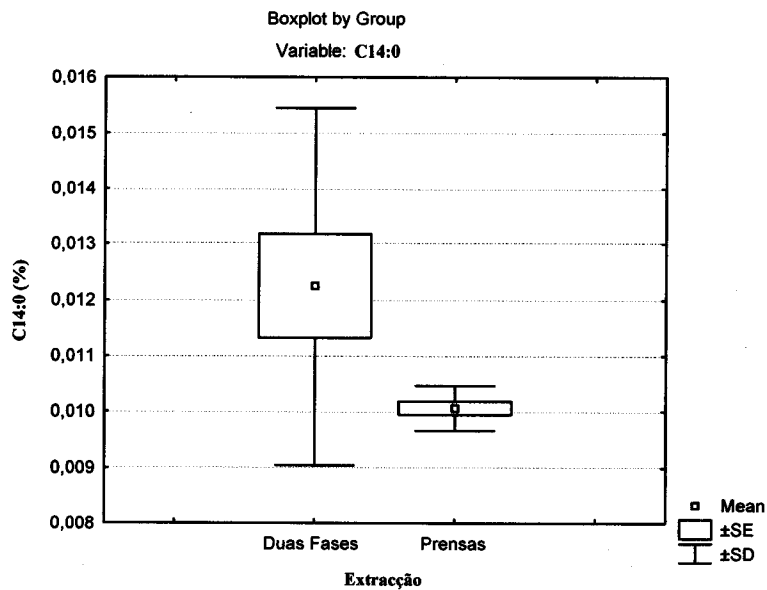
Tukey HSD test; variable Colesterol (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = 422,94, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,5106	1,0000	1,0000
2	2001	Prensas	1,0000		1,0000	1,0000	1,0000	0,5137	1,0000	1,0000
3	2002	Duas Fases	1,0000	1,0000		1,0000	1,0000	0,5065	1,0000	1,0000
4	2002	Prensas	1,0000	1,0000	1,0000		1,0000	0,5065	1,0000	1,0000
5	2003	Duas Fases	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000		0,5082	1,0000	1,0000
6	2003	Prensas	0,5106	0,5137	0,5065	0,5065	0,5082		0,5072	0,5098
7	2004	Duas Fases	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,5072		1,0000
8	2004	Prensas	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,5098	1,0000	
Tukey HSD test; variable Campesterol (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = ,18598, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,1461	0,6583	0,5518	0,6416	0,7449	0,3621	0,4626
2	2001	Prensas	0,1461		0,9441	0,9775	0,9508	0,8986	0,9986	0,9920
3	2002	Duas Fases	0,6583	0,9441		1,0000	1,0000	1,0000	0,9993	1,0000
4	2002	Prensas	0,5518	0,9775	1,0000		1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
5	2003	Duas Fases	0,6416	0,9508	1,0000	1,0000		1,0000	0,9995	1,0000
6	2003	Prensas	0,7449	0,8986	1,0000	1,0000	1,0000		0,9966	0,9996
7	2004	Duas Fases	0,3621	0,9986	0,9993	1,0000	0,9995	0,9966		1,0000
8	2004	Prensas	0,4626	0,9920	1,0000	1,0000	1,0000	0,9996	1,0000	
Tukey HSD test; variable Estigmasterol (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = ,06706, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,1242	0,1102	0,3878	0,6943	0,7662	0,8217	1,0000
2	2001	Prensas	0,1242		1,0000	0,9943	0,8968	0,0066	0,0081	0,1116
3	2002	Duas Fases	0,1102	1,0000		0,9904	0,8704	0,0058	0,0071	0,0989
4	2002	Prensas	0,3878	0,9943	0,9904		0,9992	0,0272	0,0336	0,3572
5	2003	Duas Fases	0,6943	0,8968	0,8704	0,9992		0,0744	0,0907	0,6586
6	2003	Prensas	0,7662	0,0066	0,0058	0,0272	0,0744		1,0000	0,7981
7	2004	Duas Fases	0,8217	0,0081	0,0071	0,0336	0,0907	1,0000		0,8499
8	2004	Prensas	1,0000	0,1116	0,0989	0,3572	0,6586	0,7981	0,8499	
Tukey HSD test; variable sitosterol aparente (Azeite)										
Probabilities for Post Hoc Tests										
Error: Between MS = ,13640, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,8651	0,1181	0,0381	0,0109	0,0003	0,0007	0,0044
2	2001	Prensas	0,8651		0,7242	0,3723	0,1359	0,0016	0,0071	0,0578
3	2002	Duas Fases	0,1181	0,7242		0,9980	0,8968	0,0360	0,1519	0,6590
4	2002	Prensas	0,0381	0,3723	0,9980		0,9973	0,1122	0,3886	0,9403
5	2003	Duas Fases	0,0109	0,1359	0,8968	0,9973		0,3196	0,7602	0,9996

Quadro 6.20 (conclusão)

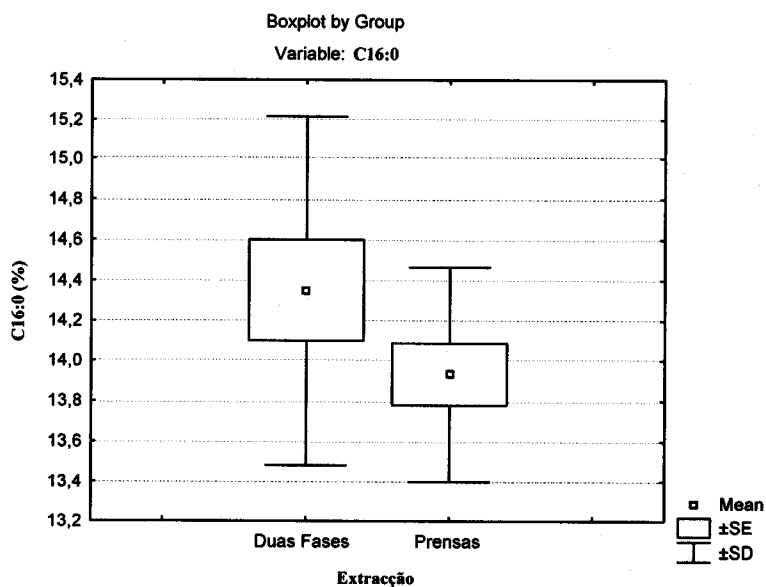
Análise de comparação ANOVA, teste de Tukey para os vários esteróis e álcoois triterpénicos, para a variedade Cobrançosa, para a interação Ano*Extracção.

6	2003	Prensas	0,0003	0,0016	0,0360	0,1122	0,3196		0,9910	0,5767
7	2004	Duas Fases	0,0007	0,0071	0,1519	0,3886	0,7602	0,9910		0,9494
8	2004	Prensas	0,0044	0,0578	0,6590	0,9403	0,9996	0,5767	0,9494	
Tukey HSD test; variable 7estigmaesterol (Azeite) Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00454, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		1,0000	0,9997	1,0000	0,8059	0,9933	0,9995	0,9513
2	2001	Prensas	1,0000		1,0000	1,0000	0,8883	0,9989	1,0000	0,9822
3	2002	Duas Fases	0,9997	1,0000		0,9998	0,9626	1,0000	1,0000	0,9978
4	2002	Prensas	1,0000	1,0000	0,9998		0,8198	0,9947	0,9997	0,9574
5	2003	Duas Fases	0,8059	0,8883	0,9626	0,8198		0,9947	0,9710	0,9999
6	2003	Prensas	0,9933	0,9989	1,0000	0,9947	0,9947		1,0000	1,0000
7	2004	Duas Fases	0,9995	1,0000	1,0000	0,9997	0,9710	1,0000		0,9987
8	2004	Prensas	0,9513	0,9822	0,9978	0,9574	0,9999	1,0000	0,9987	
Tukey HSD test; variable Eritrodiol Uvaol (Azeite) Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,01205, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,1533	0,0002	0,0002	0,0006	0,7410	0,8038	0,0233
2	2001	Prensas	0,1533		0,0101	0,0155	0,0957	0,0077	0,0096	0,9627
3	2002	Duas Fases	0,0002	0,0101		1,0000	0,9235	0,0002	0,0002	0,0716
4	2002	Prensas	0,0002	0,0155	1,0000		0,9731	0,0002	0,0002	0,1068
5	2003	Duas Fases	0,0006	0,0957	0,9235	0,9731		0,0002	0,0002	0,4658
6	2003	Prensas	0,7410	0,0077	0,0002	0,0002	0,0002		1,0000	0,0012
7	2004	Duas Fases	0,8038	0,0096	0,0002	0,0002	0,0002	1,0000		0,0014
8	2004	Prensas	0,0233	0,9627	0,0716	0,1068	0,4658	0,0012	0,0014	
Tukey HSD test; variable Esterois Totais (Azeite) Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 3294,1, df = 16,000										
	Ano	Extracção	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
1	2001	Duas Fases		0,0002	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002
2	2001	Prensas	0,0002		0,0002	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002
3	2002	Duas Fases	0,0002	0,0002		0,9535	0,9795	0,9824	0,1911	0,7615
4	2002	Prensas	0,0002	0,0002	0,9535		1,0000	0,5287	0,7285	0,9995
5	2003	Duas Fases	0,0002	0,0002	0,9795	1,0000		0,6202	0,6389	0,9974
6	2003	Prensas	0,0002	0,0002	0,9824	0,5287	0,6202		0,0388	0,2774
7	2004	Duas Fases	0,0002	0,0002	0,1911	0,7285	0,6389	0,0388		0,9391
8	2004	Prensas	0,0002	0,0002	0,7615	0,9995	0,9974	0,2774	0,9391	

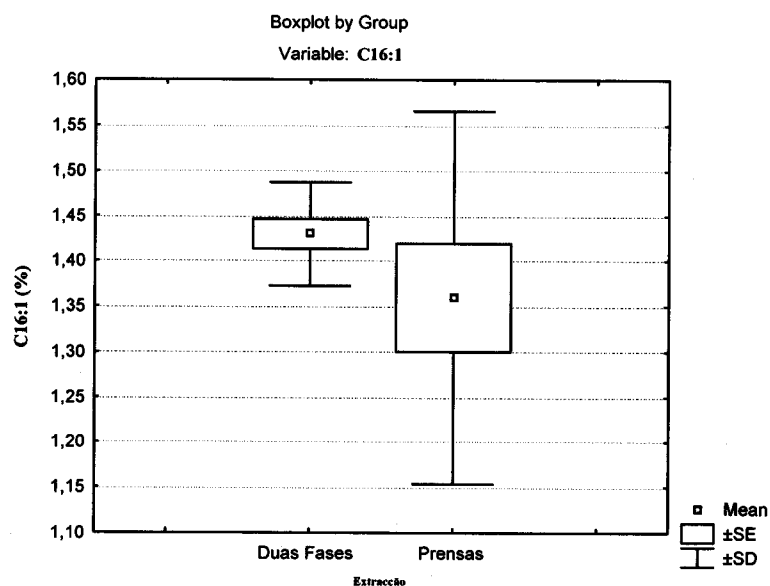
Ácidos Gordos – Carrasquenha:

**Figura 6.26**

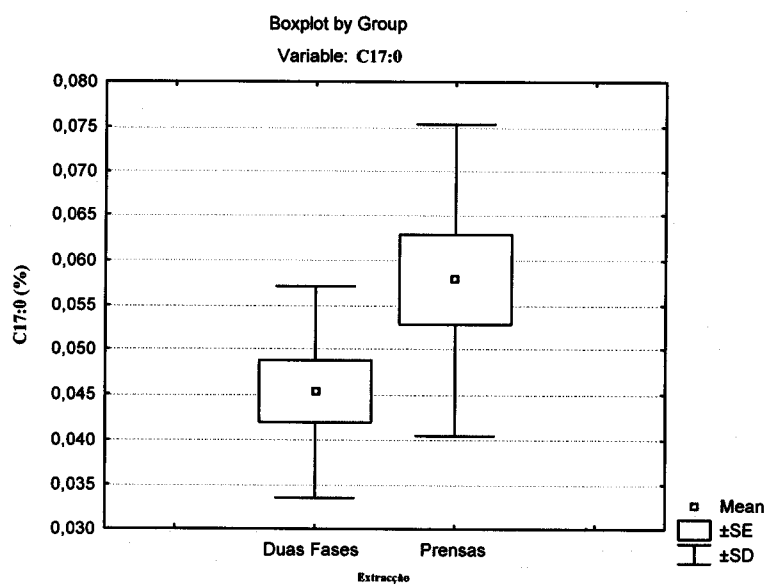
Análise de comparação ANOVA para a C14:0, para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 4,260897$ $p = ,0390$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 6.27**

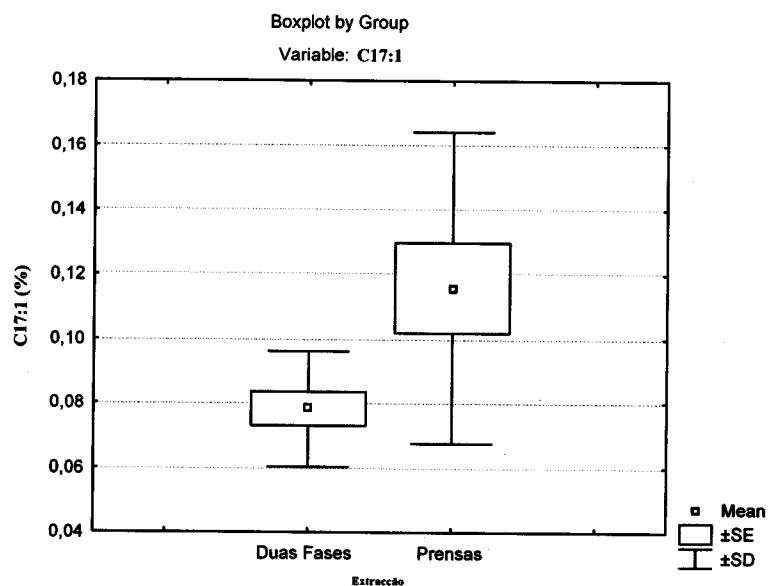
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C16:0 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = ,9633333$ $p = ,3263$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 6.28**

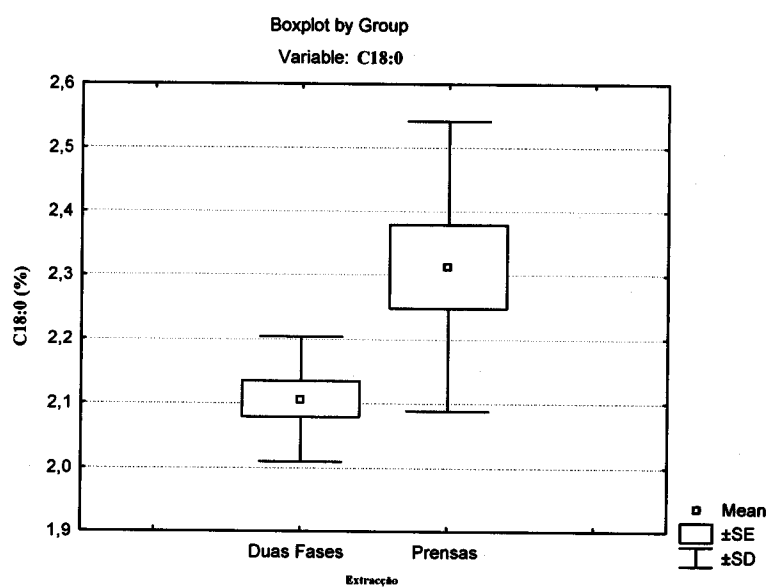
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C16:1 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24)=1,541504$ $p=,2144$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 6.29**

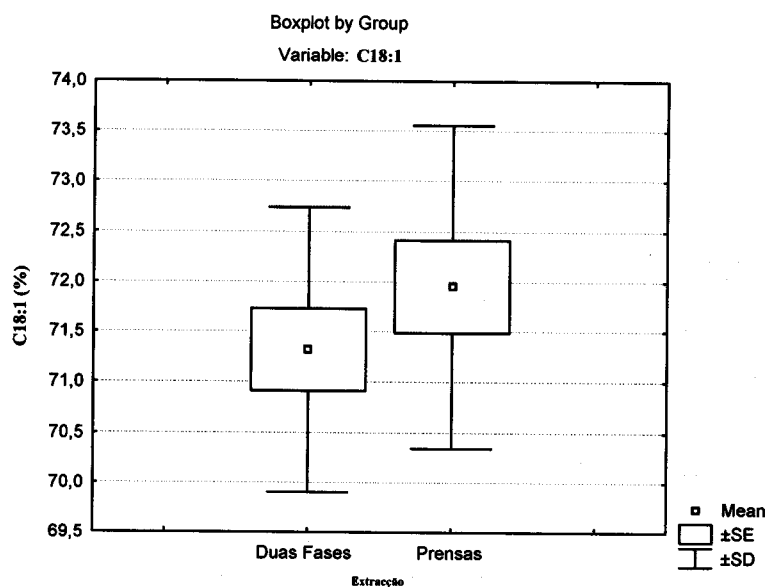
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C17:0 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24)=5,026058$ $p=,0250$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 6.30**

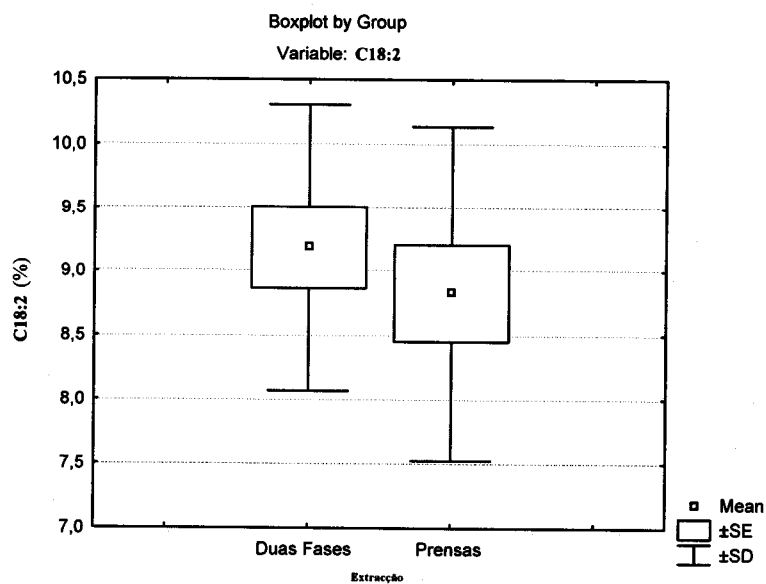
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C17:1 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24)=8,077081$ $p=,0045$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 6.31**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:0 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24)=4,565318$ $p=,0326$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 6.32**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:1 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0.5633333$ $p = 0.4529$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 6.33**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:2 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0.0033333$ $p = 0.9540$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

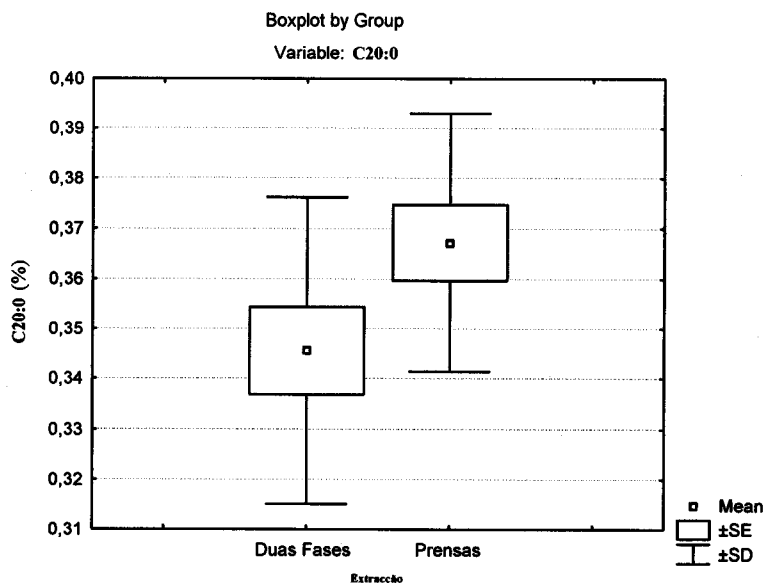


Figura 6.34

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C20:0 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24)=2,173169$ $p=,1404$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

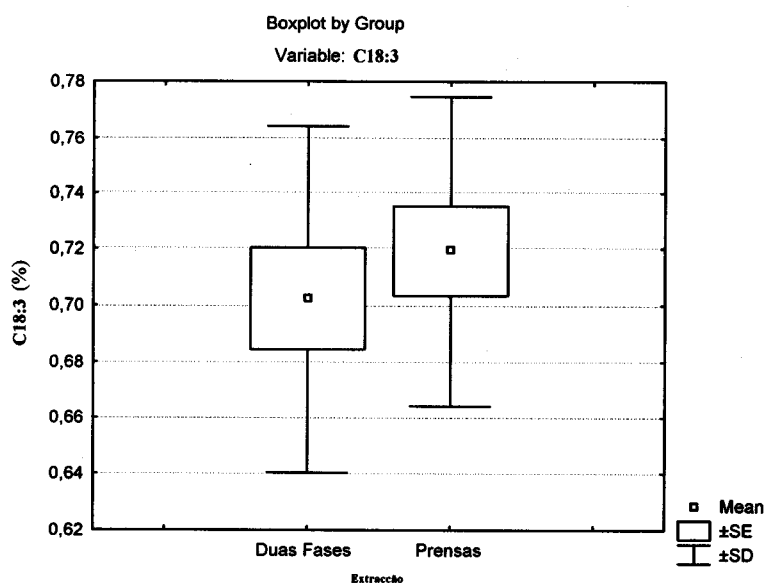


Figura 6.35

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:3 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis $H(1, N=24)=,0208696$ $p=,8851$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

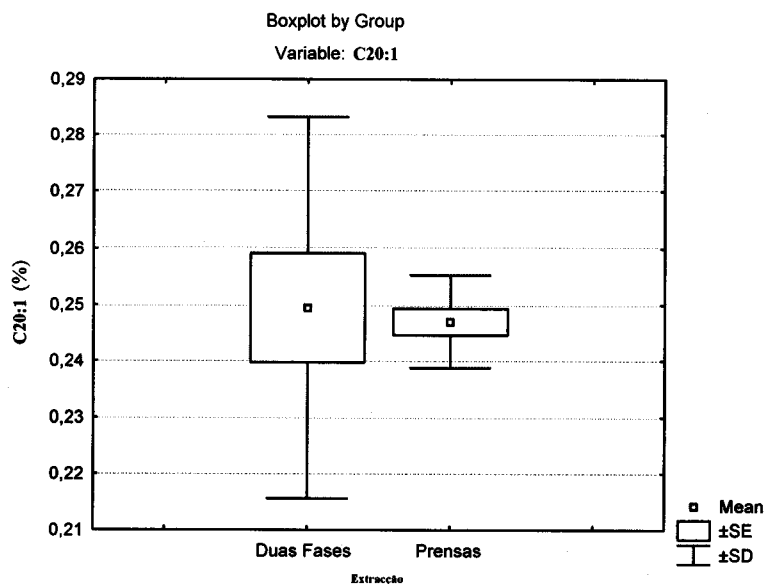


Figura 6.36

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C20:1 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis (1, N= 24) =1,101552 p =,2939
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

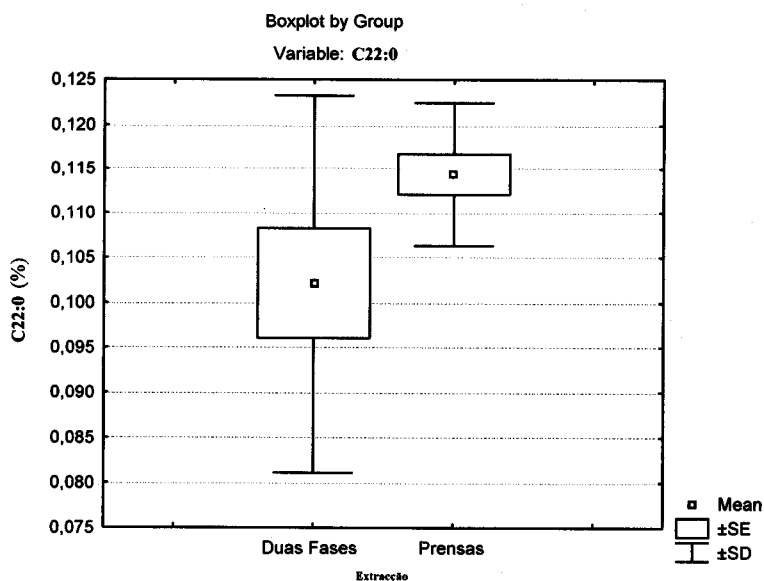


Figura 6.37

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C22:0 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: H (1, N= 24) =2,657235 p =,1031
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

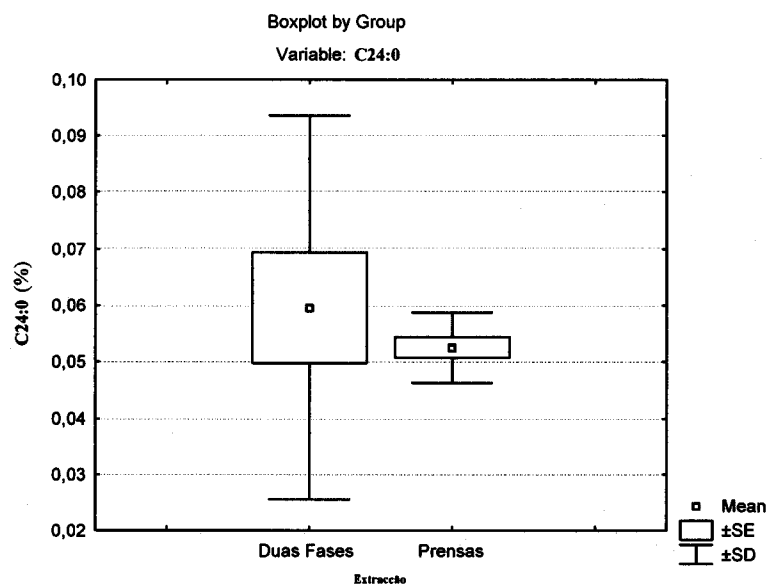


Figura 6.38

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C24:0 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0,3717018$ $p = 0,5421$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

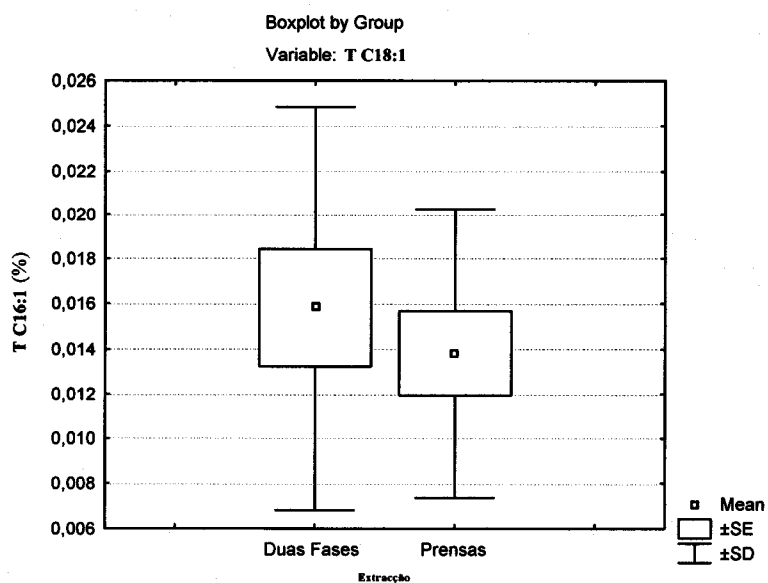


Figura 6.39

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para o T C18:1 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0,0242616$ $p = 0,8762$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

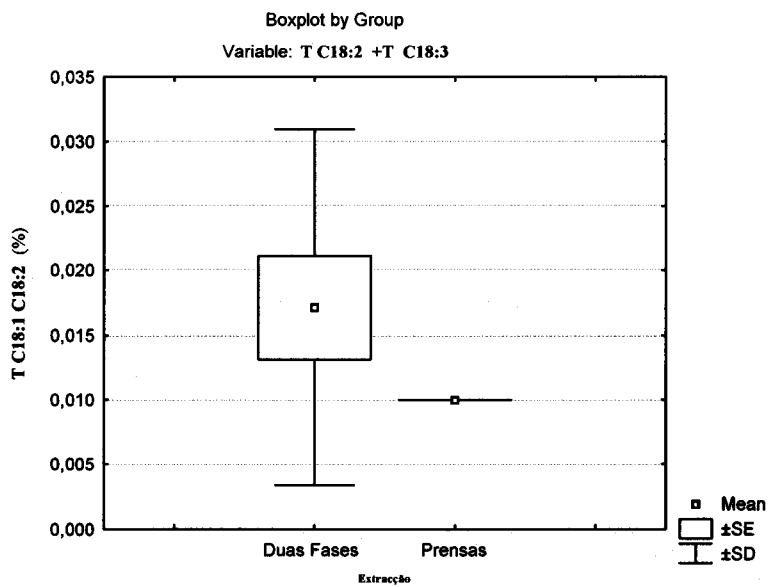


Figura 6.40
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a T C18:2 + T C18:3 para a variedade Carrasquenha, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 4,552577$ $p = 0,0329$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Ácidos Gordos - Cobrançosa:

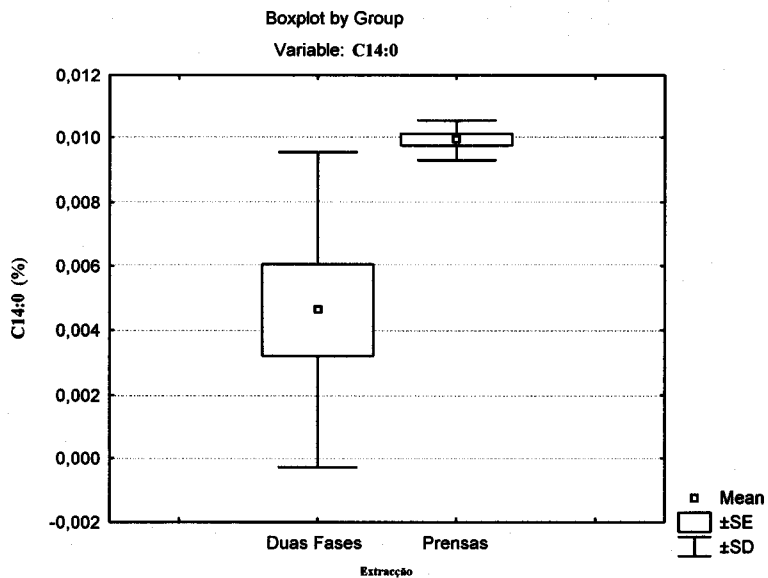
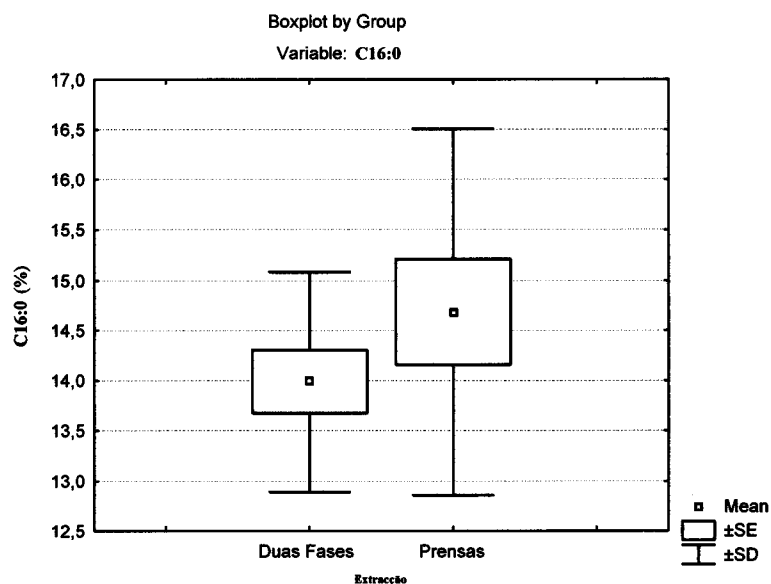
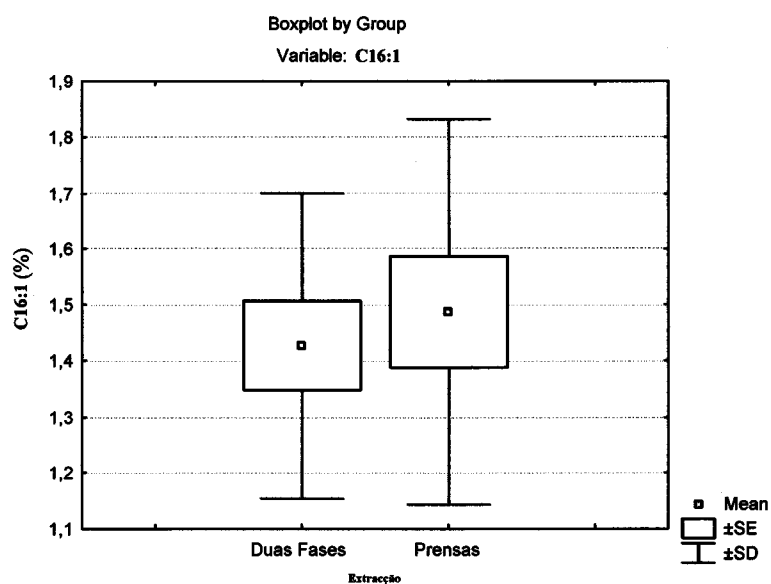


Figura 6.41
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C14:0 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 7,921076$ $p = 0,0049$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 6.42**

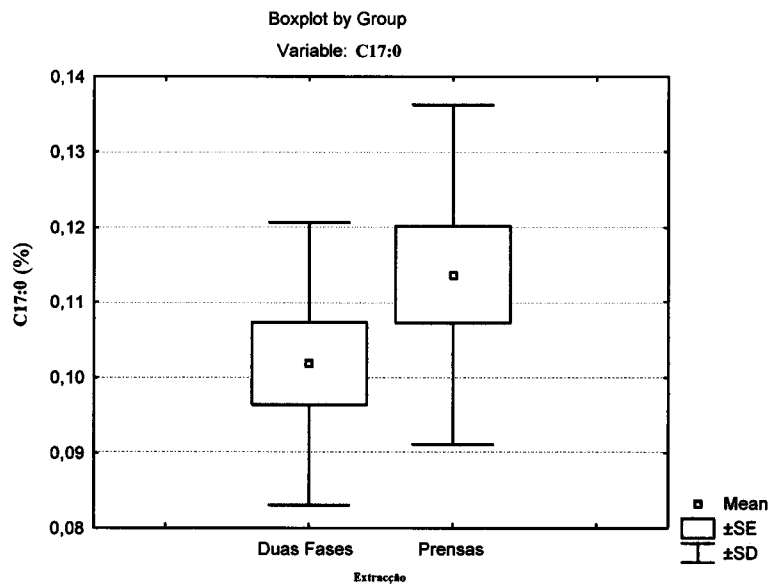
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C16:0 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $\chi^2 = 0,8537045$ $p = 0,3555$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

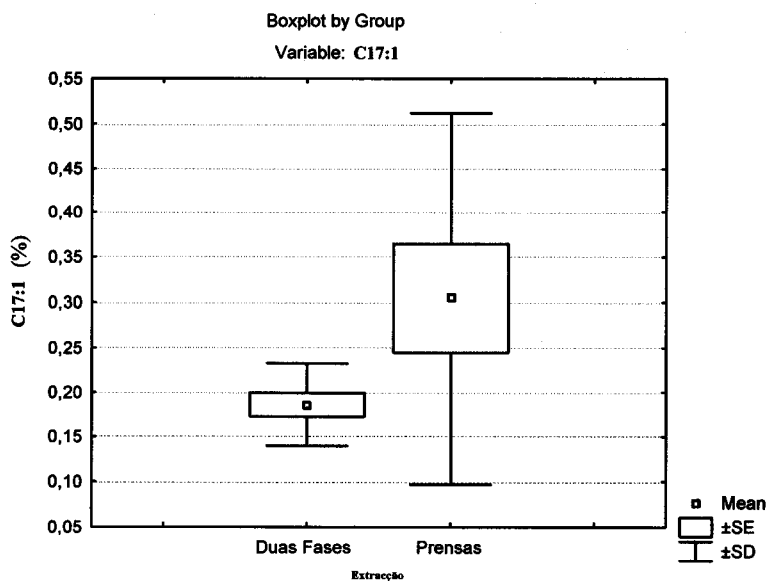
**Figura 6.43**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C16:1 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0,0208605$ $p = 0,8852$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 6.44**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C17:0 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extração. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24)=5,166593$ $p=,0230$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 6.45**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C17:1 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extração. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24)=5,285867$ $p=,0215$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

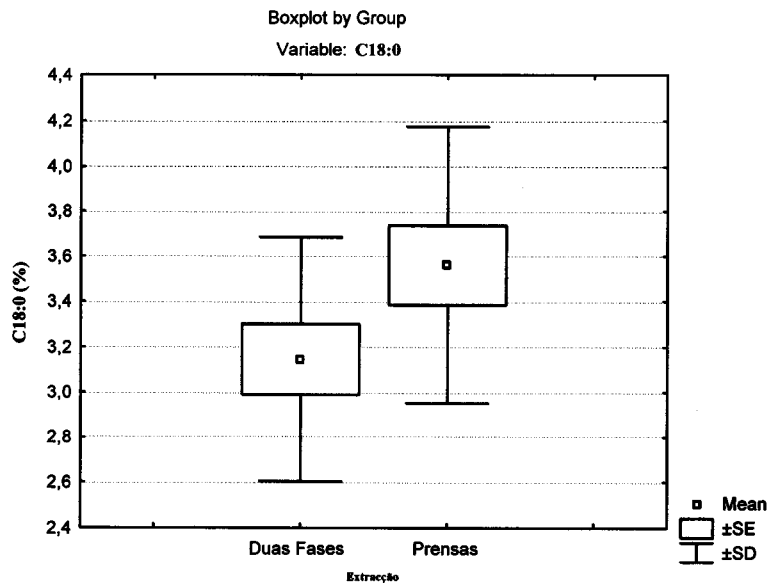


Figura 6.46
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:0 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24)=1,921671$ $p=,1657$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

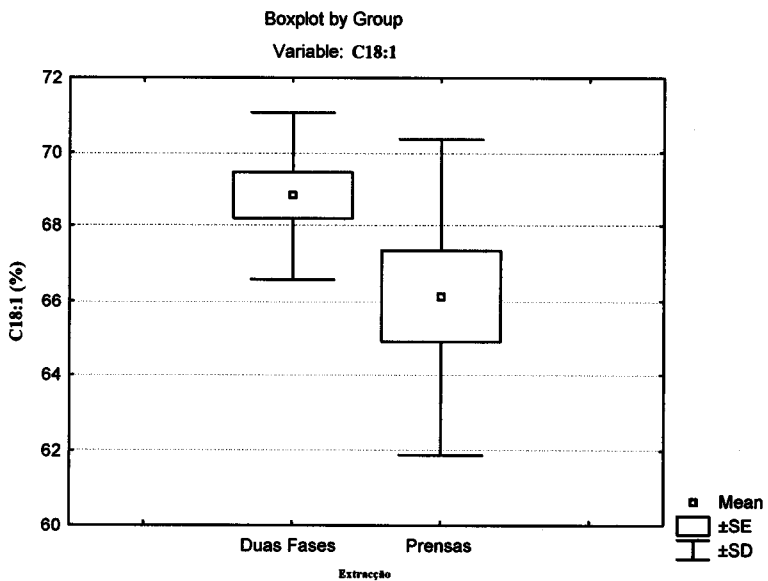
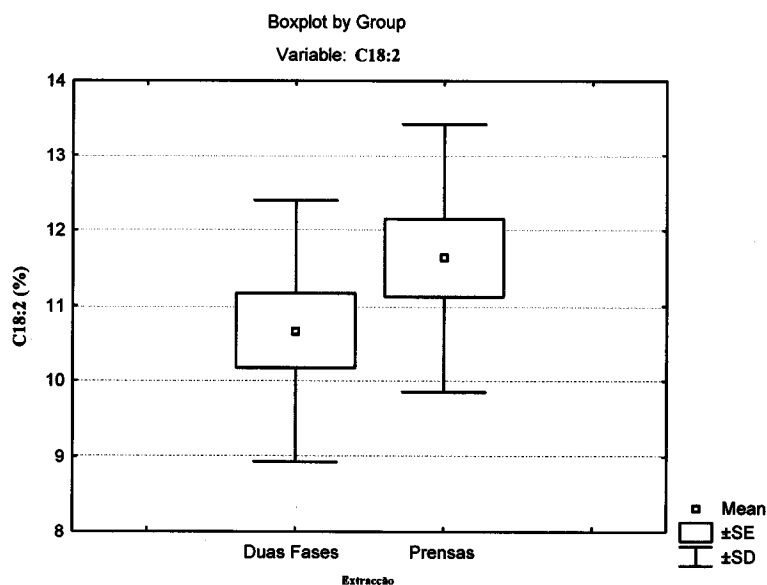
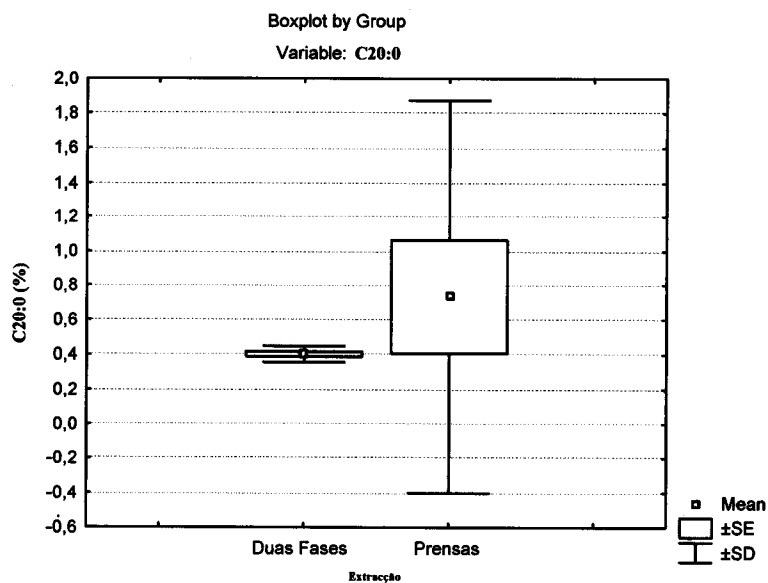


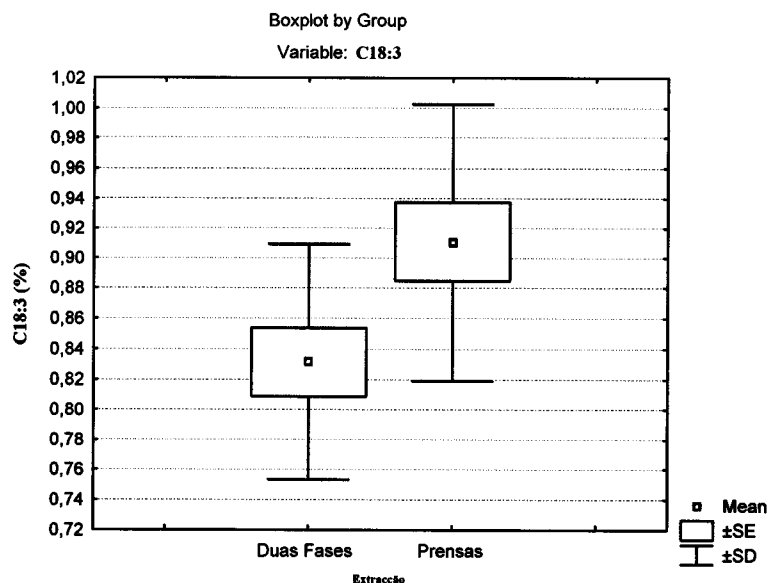
Figura 6.47
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:1 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24)=3,001305$ $p=,0832$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 6.48**

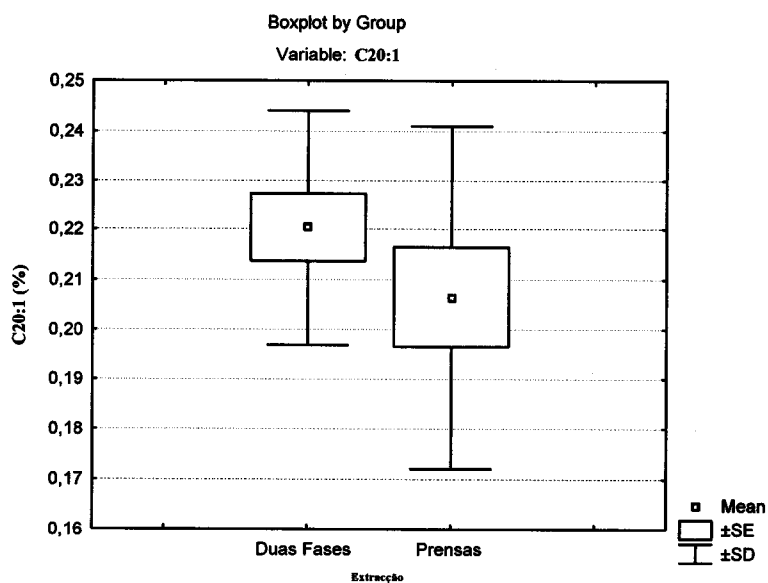
Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:2 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24)=1,333333$ $p=,2482$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 6.49**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C20:0 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24)=1,037066$ $p=,3085$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 6.50**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:3 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 3,542396$ $p = ,0598$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 6.51**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C20:1 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = ,7622625$ $p = ,3826$
Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

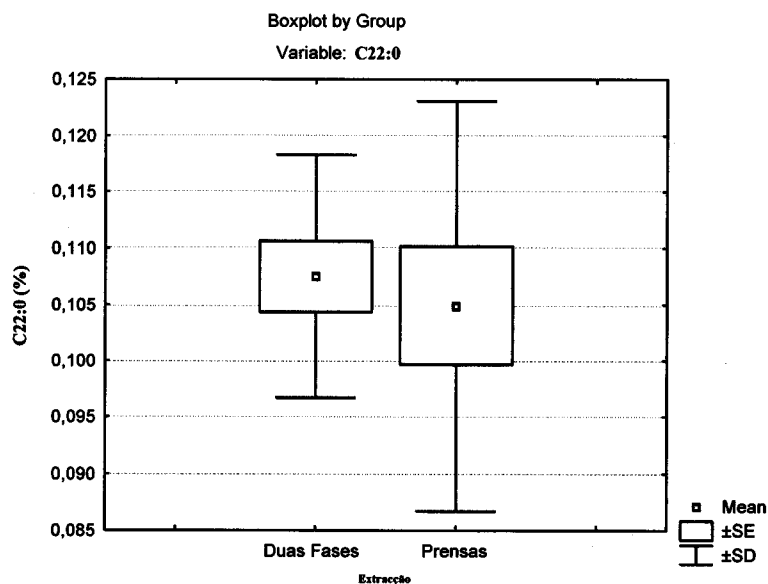


Figura 6.52

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C22:0 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 1,221239$ $p = 0,7267$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

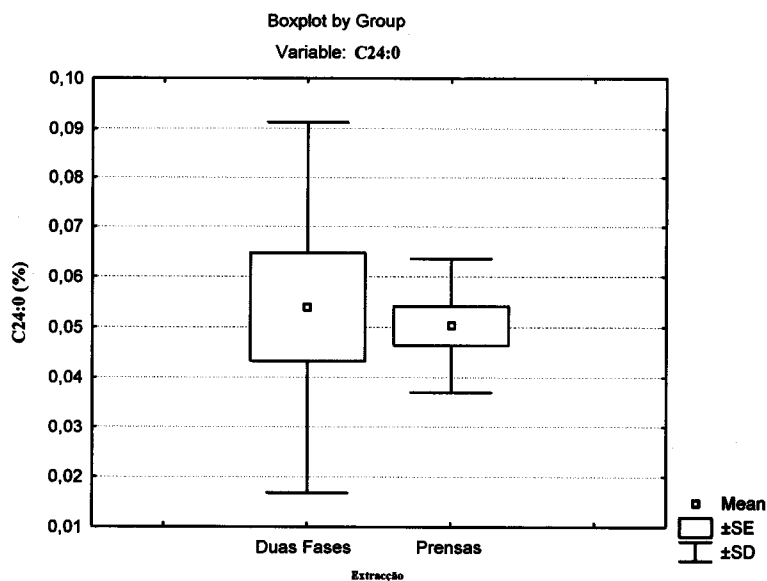


Figura 6.53

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C24:0 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 2,145460$ $p = 0,6432$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

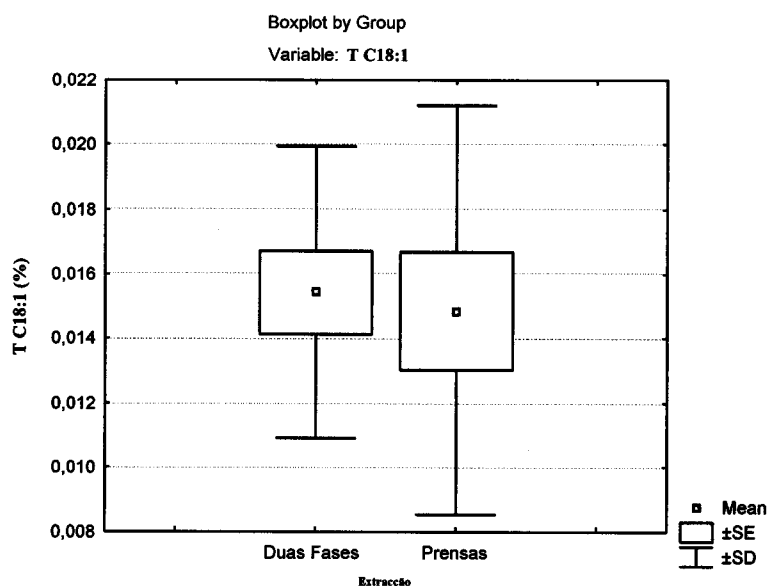


Figura 6.54

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a T C18:1 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0,0037490$ $p = 0,9512$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

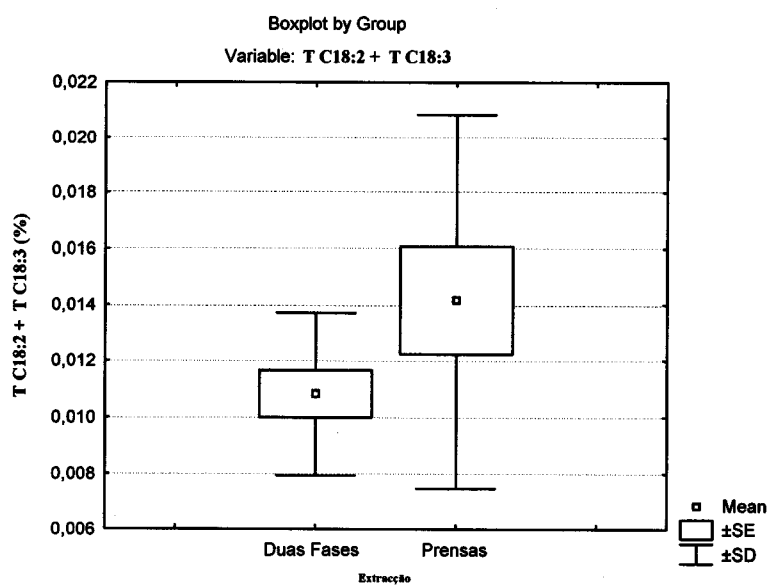


Figura 6.55

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C14:0 para a variedade Cobrançosa, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 2,281667$ $p = 0,1309$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Ácidos Gordos - Galega:

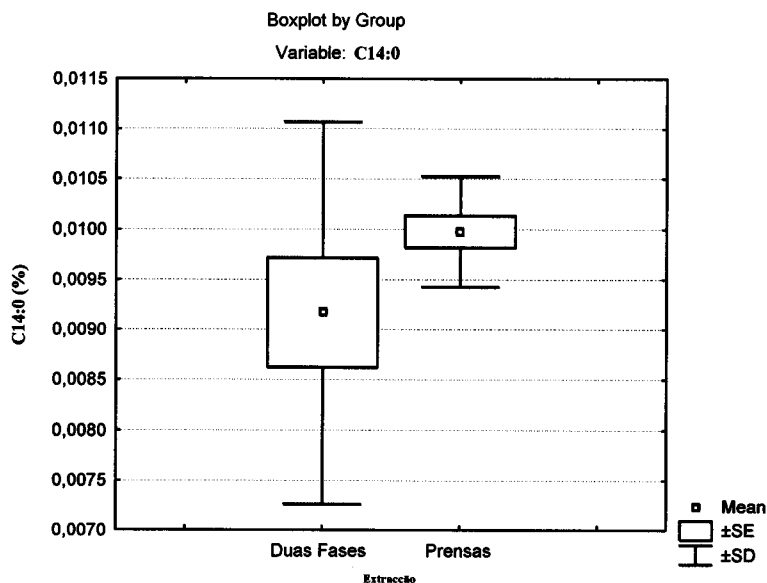


Figura 6.56

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C14:0 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 1,233366$ $p = ,2668$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

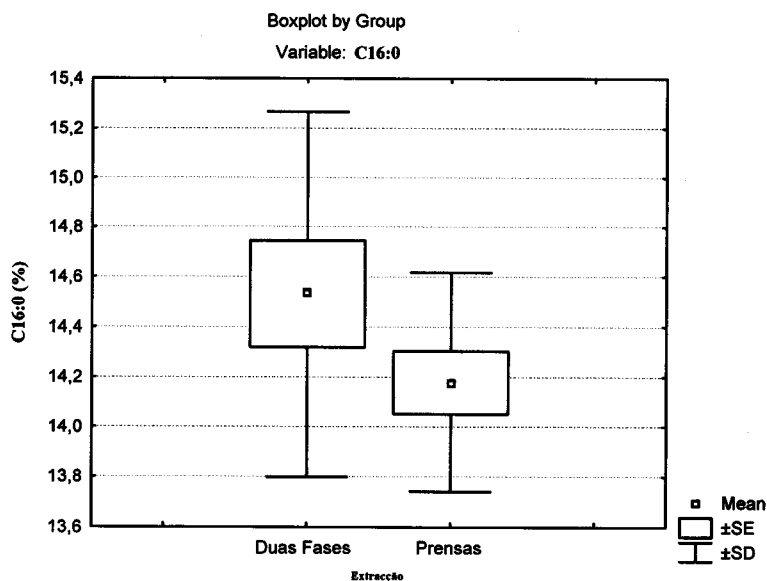


Figura 6.57

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C16:0 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = ,8533333$ $p = ,3556$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

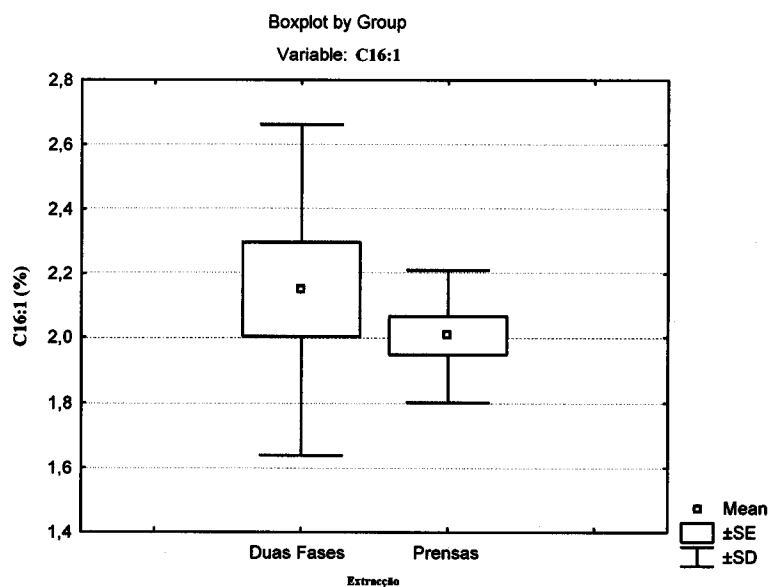


Figura 6.58

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C16:1 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0,0533333$ $p = 0,8174$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

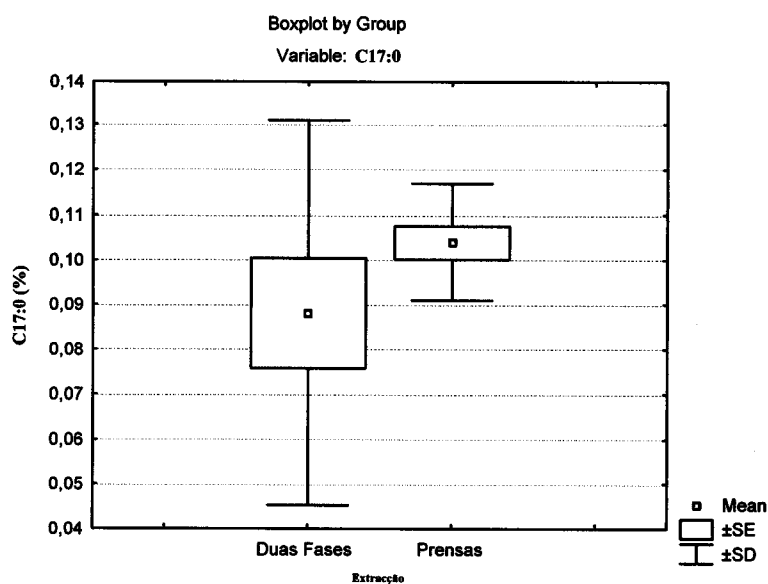


Figura 6.59

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C17:0 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0,2727273$ $p = 0,6015$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

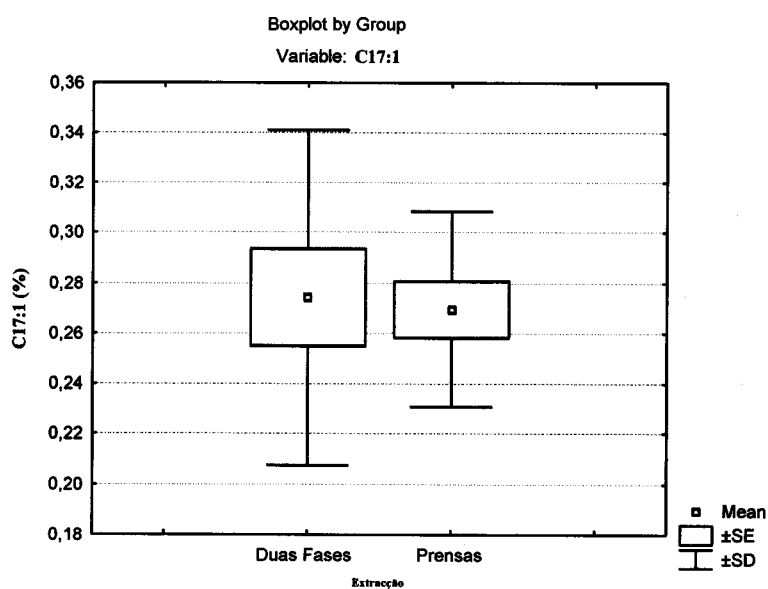


Figura 6.60

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C17:1 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 4818856 p = 4876$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

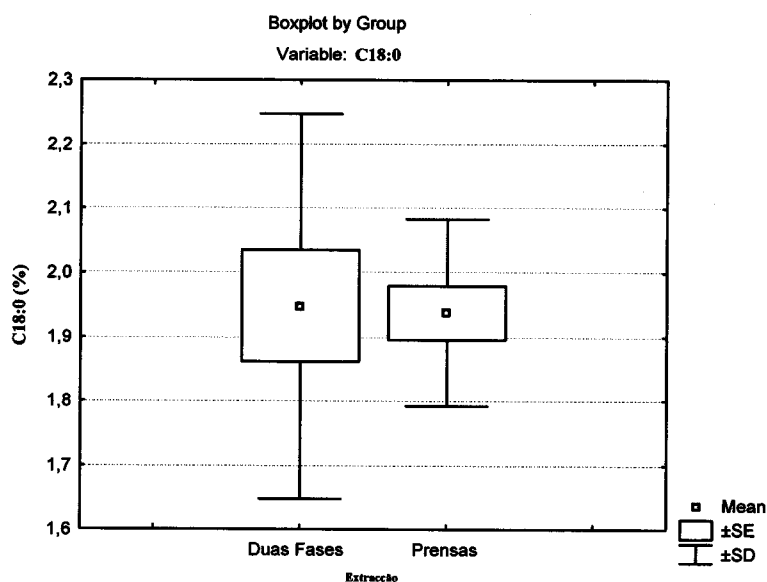


Figura 6.61

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:0 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 1202614 p = 7288$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

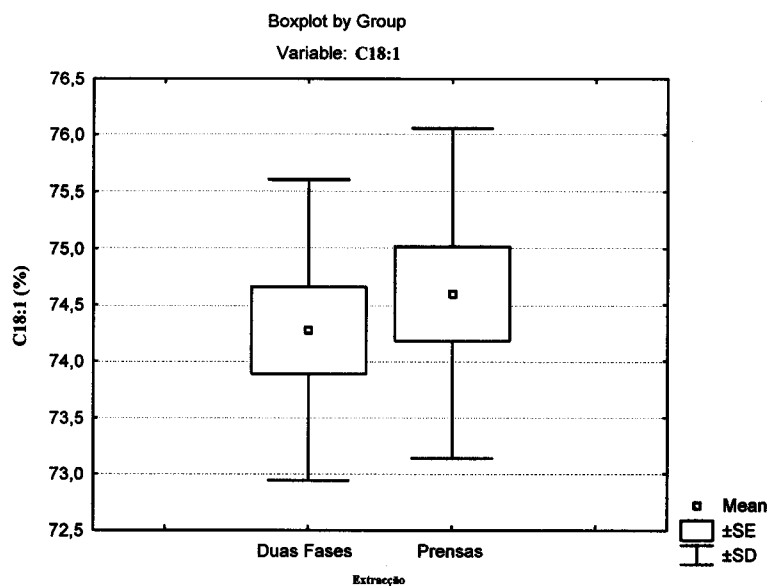


Figura 6.62

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:1 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0,0533333$ $p = 0,8174$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

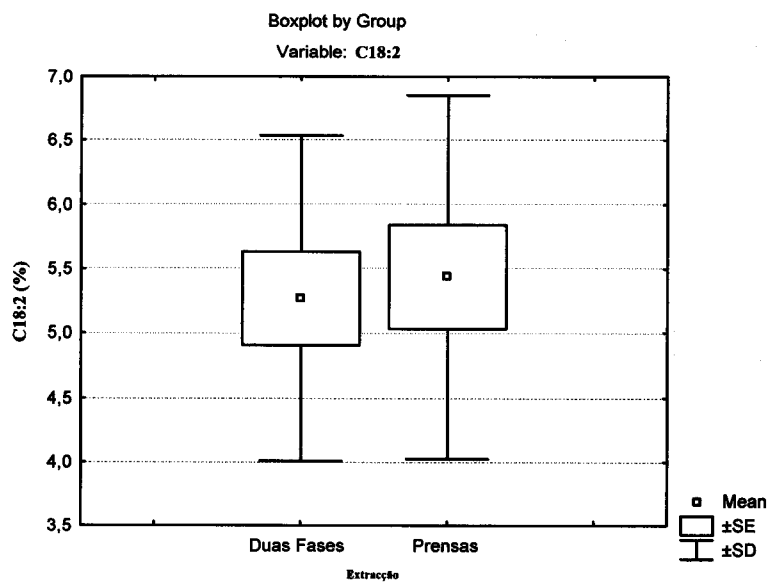


Figura 6.63

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:2 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0,3334783$ $p = 0,5636$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

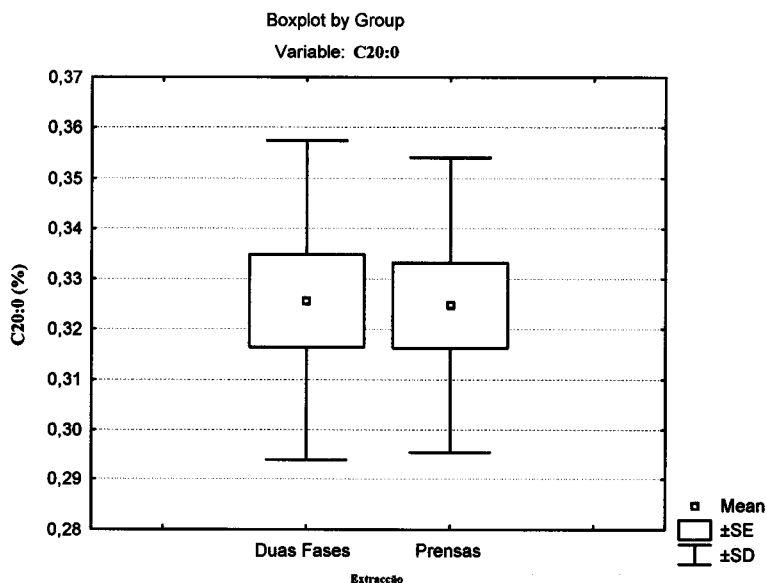


Figura 6.64

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C20:0 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0,0075229$ $p = 0,9309$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

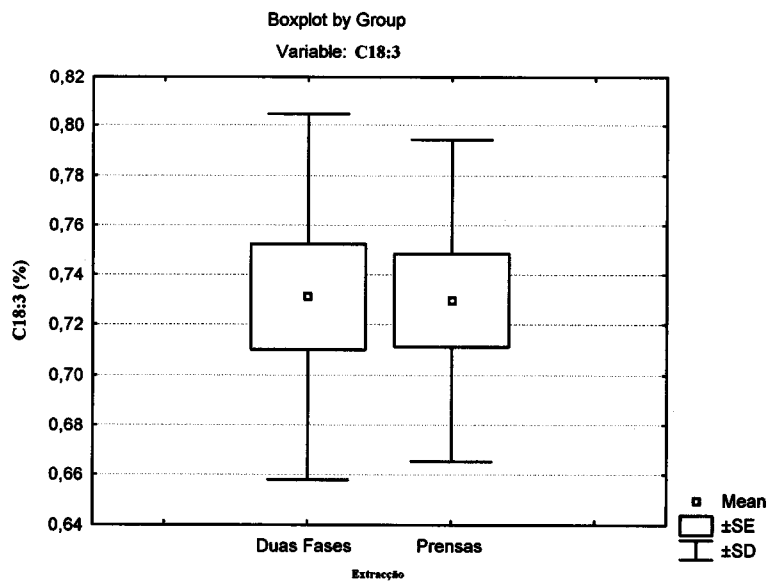


Figura 6.65

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C18:3 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0,1013179$ $p = 0,7503$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

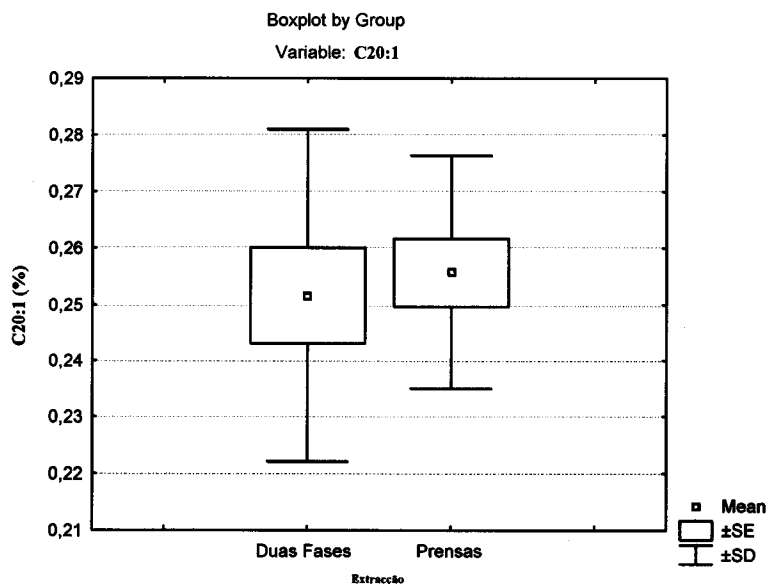


Figura 6.66

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C14:0 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0,0075492$ $p = 0,9308$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

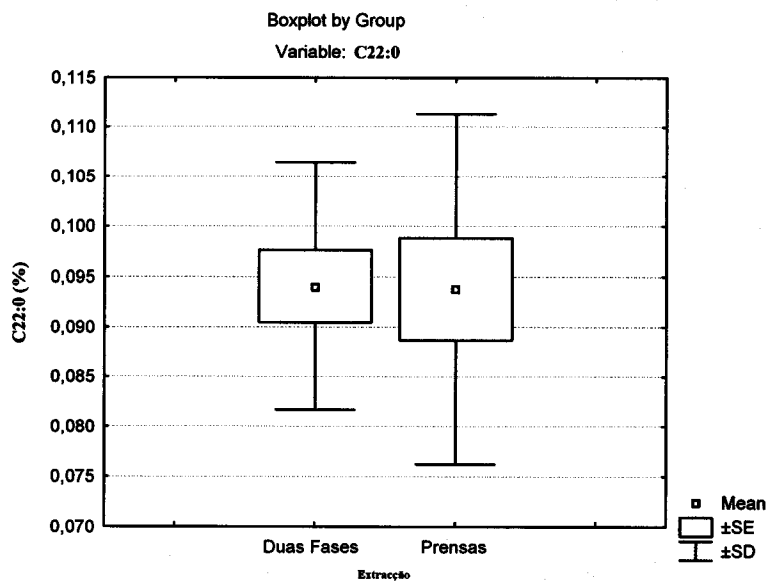


Figura 6.67

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C22:0 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0,1213187$ $p = 0,7276$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

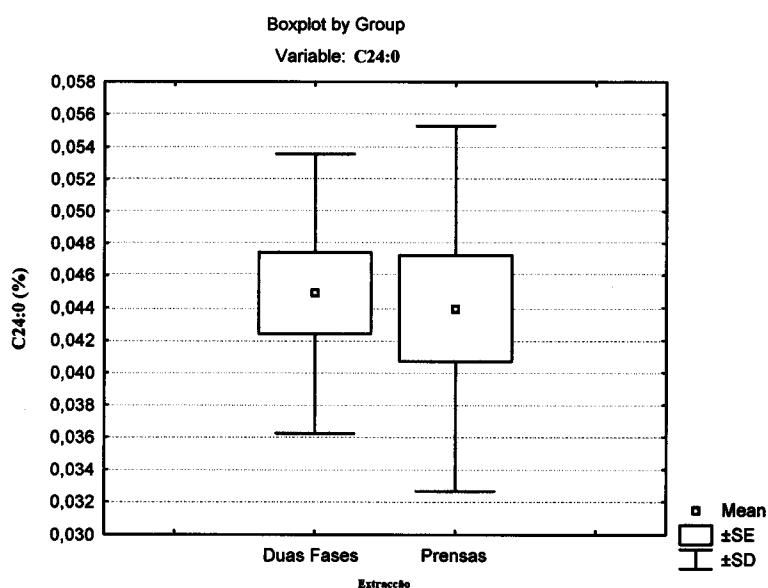


Figura 6.68

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a C24:0 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 0,0700903$ $p = 0,7912$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

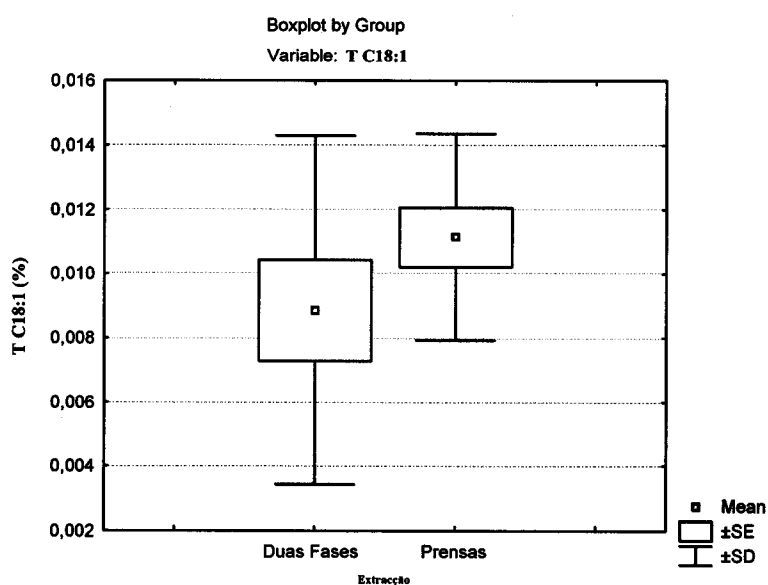
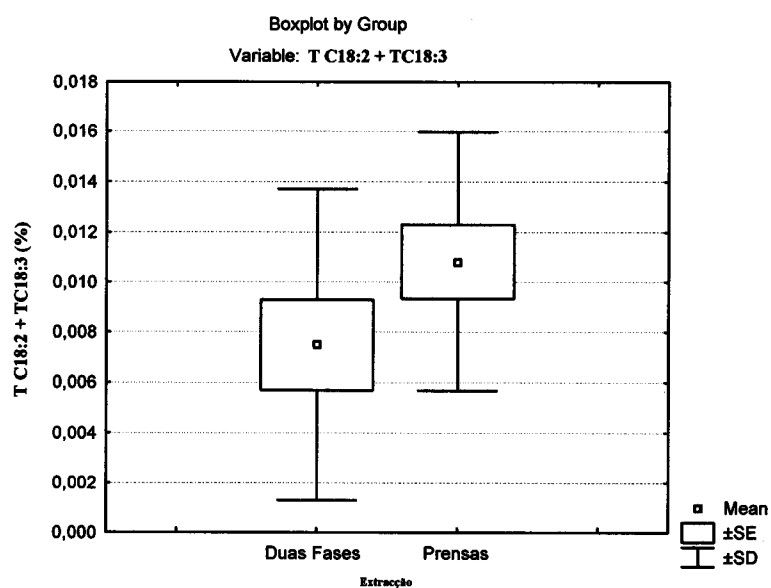


Figura 6.69

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a T C18:1 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extracção. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24) = 1,680417$ $p = 0,1949$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

**Figura 6.70**

Análise de comparação Kruskal-Wallis ANOVA para a T C18:2 + T C18:3 para a variedade Galega Vulgar, para a variável independente, Extração. O teste Kruskal-Wallis: $H(1, N=24)$

$$=2,018745 \quad p = ,1554$$

Mean – Média; SE – Erros Padrão; SD – Desvio Padrão

Anexo XI

GC-MS

Quadro 6.21

Áreas relativas médias (em função do PI) para a análise geral dos compostos voláteis, identificados nas amostras de azeite em estudo (n=9), para o ano de 2004, para GC-MS.

Compostos		Carrasquenha		Cobrançosa		Galega Vulgar	
		Prensas	2 Fases	Prensas	2 Fases	Prensas	2 Fases
1	Hexano	0,104	0,025	nd	0,132	0,111	0,038
2	Tolueno	nd	0,038	nd	nd	nd	nd
3	Hexanal	0,068	0,023	0,124	0,066	0,028	0,008
4	ni	nd	nd	nd	0,044	nd	nd
5	<i>E</i> -2-Pentenol - nit	nd	nd	nd	0,013	nd	nd
6	1-Penten-3-ol	0,011	0,042	0,017	0,012	0,022	nd
7	<i>Z</i> -3-Hexenal	nd	0,051	nd	nd	nd	0,033
8	Heptanal	0,018	0,335	nd	0,044	0,048	nd
9	β -pineno - nit	nd	nd	nd	0,025	0,030	nd
10	<i>O</i> -xileno	0,018	nd	0,052	0,013	0,082	0,015
11	ni	nd	0,167	nd	nd	0,034	0,049
12	Hexen-2-al (isómero)	0,169	0,293	0,347	0,809	0,853	1,662
13	2-pentil-furano - nit	nd	nd	0,027	nd	nd	nd
14	ni	nd	nd	nd	0,073	0,071	nd
15	1-Pentanol	0,013	0,006	0,028	0,018	0,022	0,009
16	Ocimeno (isómero)	0,011	0,044	nd	0,148	0,097	0,144
17	(<i>E,E</i>)-2,4-octadienal - nit	0,030	nd	nd	nd	nd	nd
18	2-octanona - nit	nd	nd	nd	nd	0,010	nd
19	Octanal - nit	nd	0,183	nd	0,062	nd	nd
20	<i>E</i> -2-pentenol - nit	0,039	0,245	0,039	0,066	0,054	0,076
21	<i>E</i> -4-Heptenal - nit	0,079	nd	nd	nd	nd	nd
22	6-Metil-hept-5-en-2-ona - nit	0,079	0,102	0,144	0,155	nd	0,078
23	<i>Z</i> -2-Hexenol - nit	0,007	0,032	0,233	0,018	0,209	0,013
24	<i>E</i> -3-Hexenol	0,123	0,380	0,499	0,829	0,518	0,556
25	<i>Z</i> -3-Hexenol	nd	nd	nd	0,912	nd	0,290
26	<i>E</i> -2-Octenal	0,033	0,278	0,022	nd	nd	nd
27	Ácido acético	0,272	0,337	0,937	0,593	0,585	0,188
28	2,4-Heptadienal	0,017	nd	0,045	0,016	0,015	0,006
29	α -cubebeno	0,026	0,011	nd	nd	0,101	0,164
30	Nonanal	0,057	0,339	nd	0,061	0,149	0,166
31	Ácido propanóico	0,003	0,195	0,049	0,006	nd	nd
32	ni	nd	nd	nd	nd	0,030	0,009
33	ni	0,020	0,064	nd	0,035	0,042	0,015
34	Ácido butanóico	0,087	nd	0,037	0,018	0,008	0,009
35	Ácido pentanóico	0,020	nd	0,039	0,027	0,022	0,050
36	ni	0,070	0,046	0,164	0,052	0,057	0,043
37	(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	0,040	0,130	0,099	nd	0,043	0,029
38	Ácido hexanóico - nit	0,034	0,034	0,096	0,034	0,037	0,015
39	Ácido heptanóico	0,067	0,117	0,045	0,029	0,061	0,023
40	<i>E</i> -Hexen-2-óico - nit	nd	nd	nd	0,042	nd	nd
41	Ácido octanóico	0,075	0,137	0,143	0,075	0,127	0,073
42	Ácido nonanóico	0,060	0,126	0,119	0,065	0,077	0,048

nd – não detectado

nit – Não identificado, tendo por base os critérios definidos, logo a necessitar de uma confirmação posterior.

Quadro 6.22

Caracterização dos compostos do ponto de vista sensorial encontrados nos azeites analisados, por cultivar

Nº	Composto	Descrição Olfactiva	Amostras *
Aldeídos:			
3	Hexanal	Verde; maçã; vagem; gordura	GV; Cob
8	Heptanal	Gordura; oleoso	GV; Cob; Car
19	Octanal	Citrinos; gordura	GV; Cob; Car
5	<i>E</i> -2-Pental	Verde, maçã, floral	Cob
12	Hexen-2-al	Amêndoa, verde, maçã; doce	GV; Cob; Car
7	<i>Z</i> -3-Hexenal	Verde; erva; vagem	GV; Car
26	<i>E</i> -2-Octenal	Fruta, gordura; picante	Cob; Car
30	Nonanal	Pepino; erva; gordura; ranço	GV; Cob; Car
28	2,4-Heptadienal	Gordura	GV; Cob; Car
37	(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	Amanteigado; gordura	GV; Cob; Car
21	<i>E</i> -4-Heptenal	Biscoito, creme	Car
17	(<i>E,E</i>)-2,4-octadienal	Doce; pepino	Cob; Car
Alcôois:			
15	1-Pentanol	Pungente; pegajoso; balsâmico	Gv; Cob
6	1-Penten-3-ol	Terra molhada	GV; Cob; Car
20	<i>Trans</i> -2-pentenol	Banana; cogumelo	GV; Cob; Car
23	<i>Z</i> -2-Hexenol - <i>nit</i>	Banana; pungente; verde; fresco	GV; Cob; Car
24	<i>E</i> -3-Hexenol	Verde; maçã; intenso; avinhado	GV; Cob; Car
25	<i>Z</i> -3-Hexenol	Verde; maçã	Cob; Car
Cetonas:			
22	6-metil-5-hepten-2-ona	Verde; erva; gordura; pungente	GV; Cob; Car
18	2-octanona	Erva; manteiga; resina	GV
Ácidos Carboxílicos:			
27	Ácido acético	Pungente; amargo; avinagrado	GV; Cob; Car
31	Ácido propanóico	Aromático; pungente; ranço; soja	Cob; Car
34	Ácido butanóico	Manteiga; ranço; azedo; picante	GV; Cob; Car
35	Ácido pentanóico	Doce; pungente; ranço; pútrido	GV; Cob
38	Ácido hexanóico	Doce; pungente	GV; Cob; Car
39	Ácido heptanóico	Doce; pungente	GV; Cob; Car
40	<i>Trans</i> -Hexen-2-óico	Gordura	Cob
41	Ácido octanóico	Doce; queijo	GV; Cob; Car
42	Ácido nonanóico	Verde; gordura	GV; Cob
Hidrocarbonetos:			
1	Hexano	Alcalino	GV; Cob; Car
2	Tolueno	Tinta	Car
29	α -cubebeno	Erva; cera	GV; Car
9	β -pineno	Resina; pinho	GV; Cob; Car
10	<i>O</i> -xileno		GV; Cob; Car
16	<i>cis</i> -ocimeno	Citrino; erva; floral	GV; Cob; Car
Derivados do furano:			
13	2-pentil-furano	Manteiga; feijão verde	Cob

GV- Galega vulgar; Cob- Cobrançosa; Ca- Carrasquenha.

Fonte da descrição olfactiva: Angerosa *et al.*, 1999; Angerosa *et al.*, 2002; Angerosa *et al.*, 2004; Cavalli *et al.*, 2004; Morales *et al.*, 2005.

Anexo XII

Análise estatística, GC-MS

Quadro 6.23

Análise Anova para todos os compostos, para o ano de 2004 resultante da comparação dos dois métodos de extracção, GC-MS ($p \leq 0,05$, diferenças significativas).

		Significância para Galega Vulgar	Significância para Cobrançosa	Significância para Carrasquenha
1	Hexano	s	s	s
2	Tolueno	ns	ns	s
3	Hexanal	s	s	s
4	ni	ns	s	ns
5	<i>E</i> -2-Pentenal - nit	ns	s	ns
6	1-Penten-3-ol	s	s	s
7	<i>Z</i> -3-Hexenal	s	ns	s
8	Heptanal	s	s	s
9	β -pineno - nit	s	s	s
10	<i>O</i> -xileno	s	s	s
11	ni	ns	ns	ns
12	Hexen-2-al (<i>isómero</i>)	s	s	s
13	2-pentil-furano – nit	ns	s	ns
14	ni	s	s	ns
15	1-Pentanol	s	s	
16	Ocimeno (<i>isómero</i>)	s	s	s
17	(<i>E,E</i>)-2,4-octadienal – nit	ns	ns	s
18	2-octanona – nit	s		
19	Octanal - nit	s	s	s
20	<i>E</i> -2-pentenol - nit	s	s	s
21	<i>E</i> -4-Heptenal - nit	ns	ns	s
22	6-Metil-hept-5-en-2-ona - nit	s	s	s
23	<i>Z</i> -2-Hexenol - nit	s	s	s
24	<i>E</i> -3-Hexenol	ns	s	s
25	<i>Z</i> -3-Hexenol	ns	s	s
26	<i>E</i> -2-Octenal	ns	s	s
27	Ácido acético	s	s	s
28	2,4-Heptadienal	s	s	s
29	α -cubebeno	ns	ns	s
30	Nonanal	ns	s	s
31	Ácido propanóico	ns	s	s
32	ni	ns	s	ns
33	ni	ns	s	s
34	Ácido butanóico	ns	s	s
35	Ácido pentanóico	s	s	ns
36	ni	s	ns	ns
37	(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	s	s	ns
38	Ácido hexanóico - nit	s	s	s
39	Ácido heptanóico	s	s	s
40	<i>E</i> -Hexen-2-óico – nit	ns	s	ns
41	Ácido octanóico	s	s	s
42	Ácido nonanóico	s	s	ns

s - Diferenças significativas; ns - Não significativas

Anexo XIII

GCxGC-MS

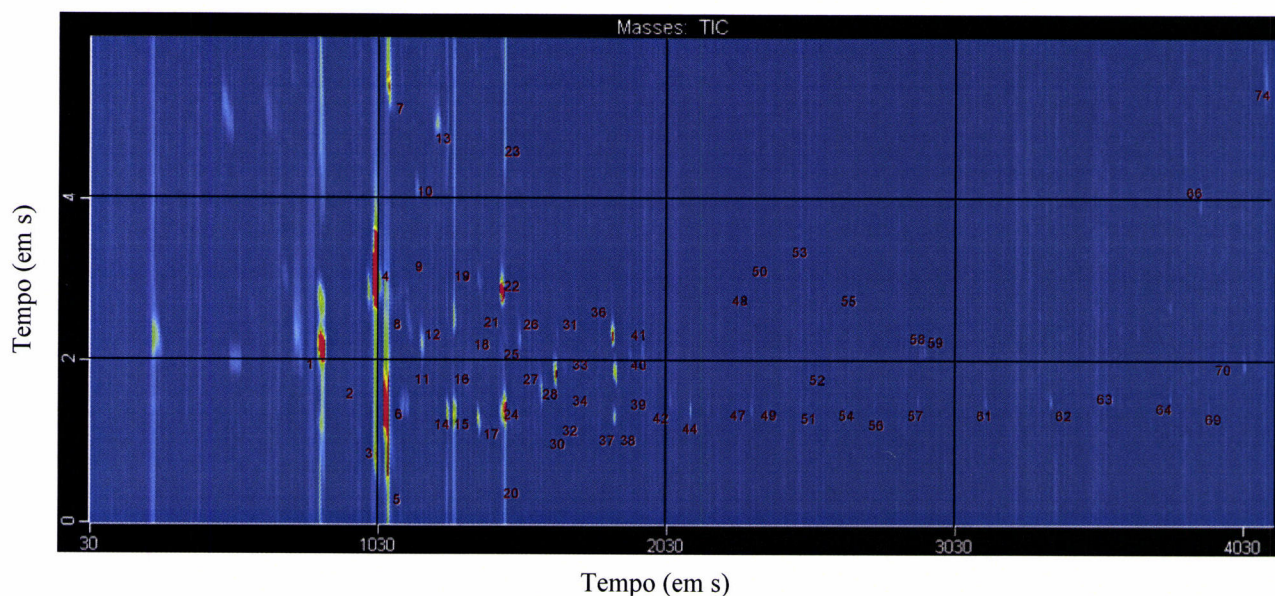


Figura 6.73

Gráfico bidimensional para o azeite analisado por HS-SPME-GC×GC/ToF-MS, Cobrançosa, Duas fases, 1ª extracção 2002.

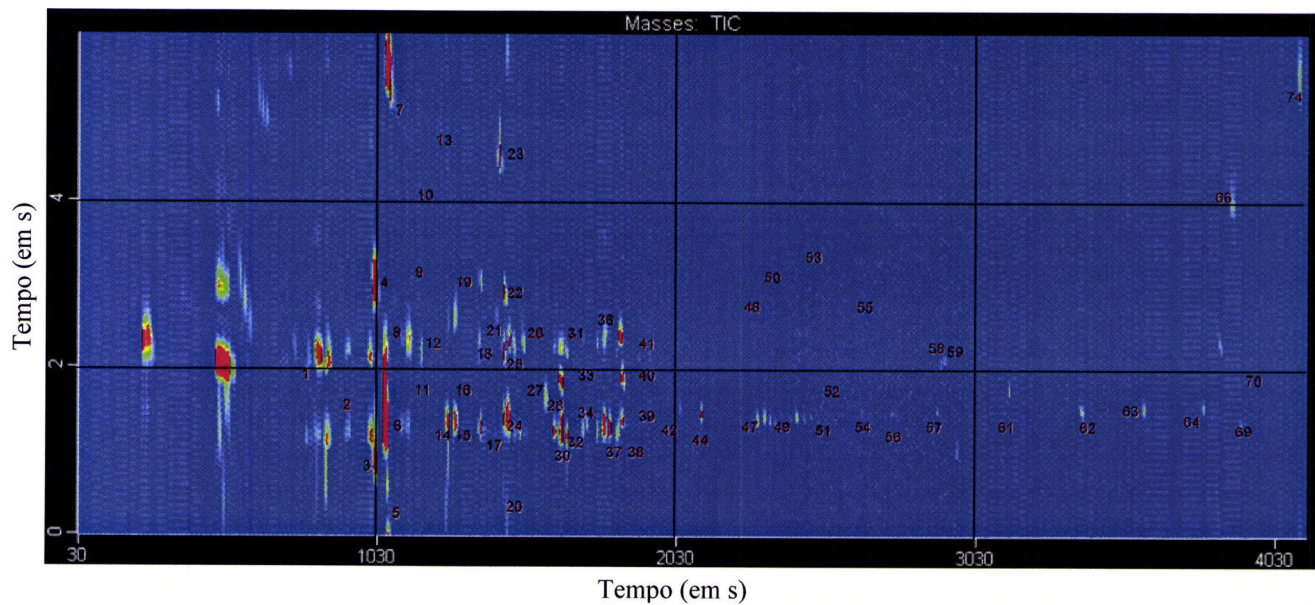


Figura 6.74

Gráfico bidimensional para o azeite analisado por HS-SPME-GC×GC/ToF-MS, Cobrançosa, Prensas, 1ª extracção 2002.

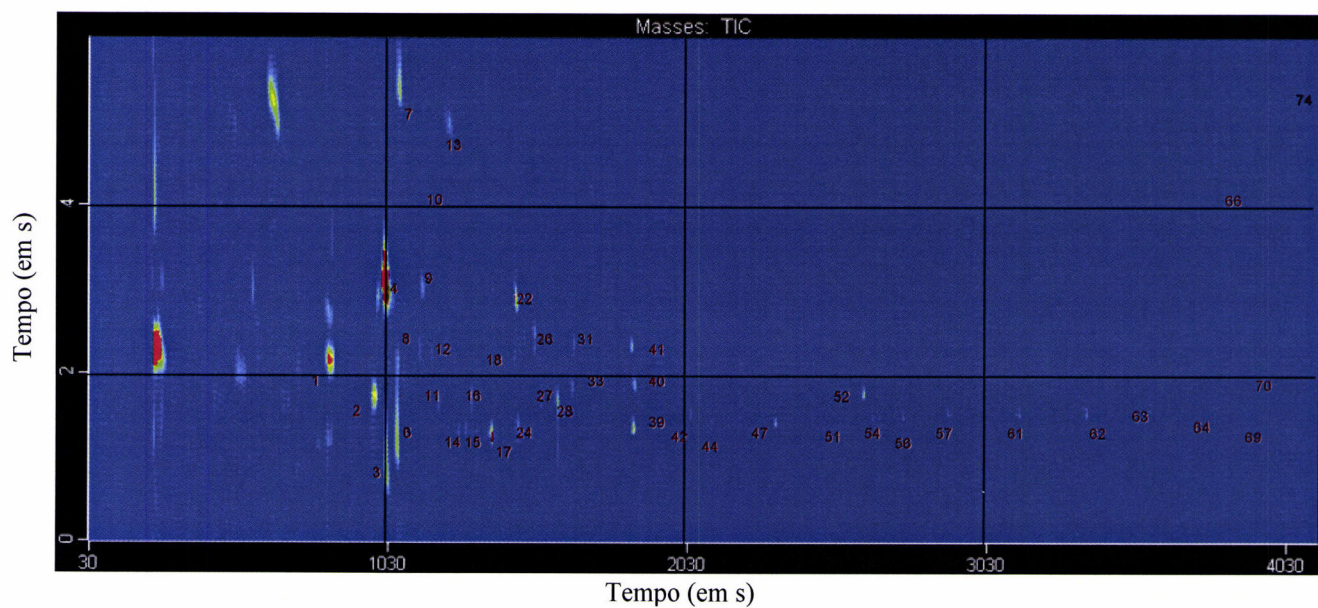


Figura 6.75
Gráfico bidimensional para o azeite analisado por HS-SPME-GC×GC/ToF-MS, Galega Vulgar, Duas fases, 1ª extração 2002.

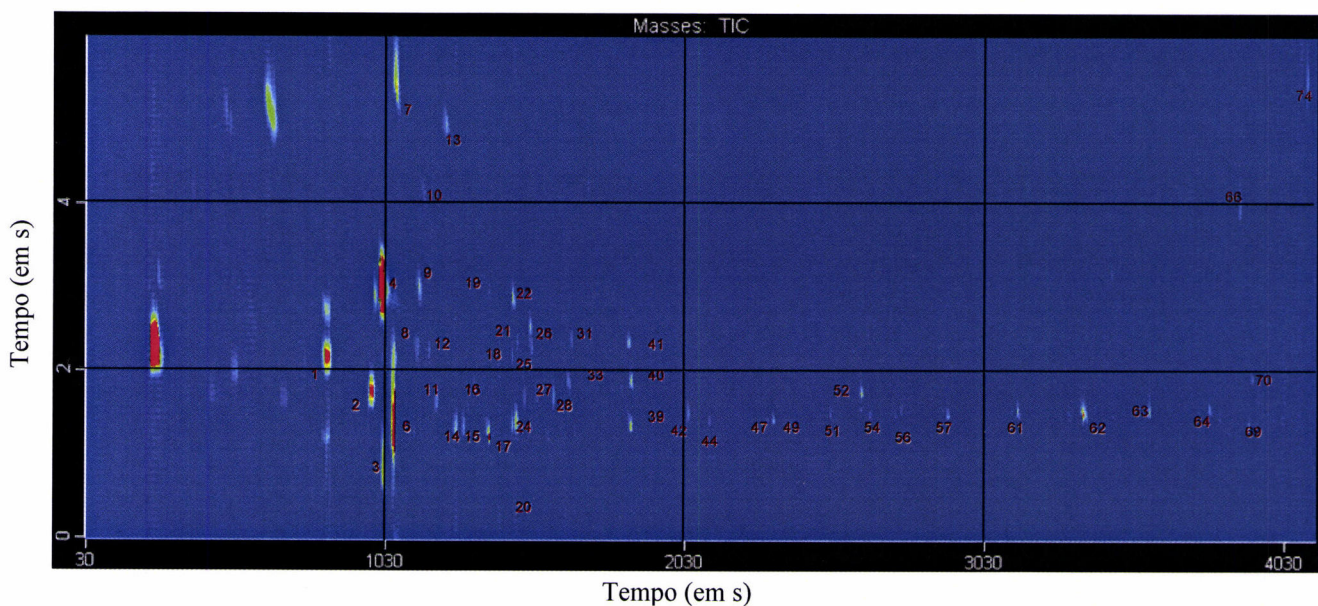


Figura 6.76
Gráfico bidimensional para o azeite analisado por HS-SPME-GC×GC/ToF-MS, Galega Vulgar, Prensas, 1ª extração 2002.

Quadro 6.24

Soma das áreas pelo *software* Leco para cada quadrante para todos os azeites analisados.

Amstras / Quadrantes	1a	1b	1c	2a	2b	2c	3a	3b	3c	4a	4b	4c
Car Duas Fases 1 Extração	6,73E+07	1,90E+08	5,87E+07	6,48E+06	5,26E+06	1,79E+06	8,22E+05	2,47E+05	8,16E+03	3,40E+05	1,91E+04	0,00E+00
Car Duas Fases 2 Extração	6,40E+07	1,80E+08	5,57E+07	6,15E+06	5,00E+06	1,70E+06	7,81E+05	2,35E+05	7,75E+03	3,23E+05	1,82E+04	0,00E+00
Car Duas Fases 3 Extração	7,07E+07	1,99E+08	6,16E+07	6,80E+06	5,53E+06	1,87E+06	8,63E+05	2,59E+05	8,57E+03	3,57E+05	2,01E+04	0,00E+00
Car Prensas 1 Extração	1,41E+08	3,29E+08	7,73E+07	1,16E+07	6,04E+06	2,74E+06	1,54E+06	2,09E+05	1,17E+04	4,32E+06	5,94E+05	4,82E+04
Car Prensas 2 Extração	1,34E+08	3,12E+08	7,34E+07	1,10E+07	5,74E+06	2,60E+06	1,46E+06	1,98E+05	1,11E+04	4,10E+06	5,64E+05	4,58E+04
Car Prensas 3 Extração	1,48E+08	3,45E+08	8,12E+07	1,21E+07	6,34E+06	2,87E+06	1,62E+06	2,19E+05	1,23E+04	4,54E+06	6,24E+05	5,06E+04
Cob Duas Fases 1 Extração	1,68E+08	2,81E+08	5,75E+07	4,17E+07	2,20E+07	2,48E+07	8,51E+05	1,38E+05	5,88E+03	1,28E+06	1,38E+06	3,41E+05
Cob Duas Fases 2 Extração	1,59E+08	2,67E+08	5,46E+07	3,96E+07	2,09E+07	2,35E+07	8,09E+05	1,31E+05	5,59E+03	1,21E+06	1,31E+06	3,24E+05
Cob Duas Fases 3 Extração	1,76E+08	2,95E+08	6,04E+07	4,38E+07	2,31E+07	2,60E+07	8,94E+05	1,45E+05	6,18E+03	1,34E+06	1,45E+06	3,58E+05
Cob Prensas 1 Extração	1,21E+08	7,59E+07	6,73E+07	6,22E+06	2,66E+07	1,32E+06	5,92E+06	1,68E+07	3,13E+04	1,95E+07	1,67E+07	2,20E+06
Cob Prensas 2 Extração	1,15E+08	7,21E+07	6,40E+07	5,91E+06	2,53E+07	1,26E+06	5,63E+06	1,60E+07	2,97E+04	1,85E+07	1,58E+07	2,09E+06
Cob Prensas 3 Extração	1,27E+08	7,97E+07	7,07E+07	6,53E+06	2,80E+07	1,39E+06	6,22E+06	1,77E+07	3,28E+04	2,05E+07	1,75E+07	2,31E+06
GV Duas Fases 1 Extração	3,52E+07	9,24E+07	5,72E+06	1,01E+07	1,56E+07	3,60E+06	2,17E+06	2,97E+06	7,92E+04	3,96E+06	1,10E+07	4,20E+06
GV Duas Fases 2 Extração	3,34E+07	8,78E+07	5,43E+06	9,61E+06	1,49E+07	3,42E+06	2,07E+06	2,82E+06	7,52E+04	3,77E+06	1,04E+07	3,99E+06
GV Duas Fases 3 Extração	3,69E+07	9,70E+07	6,01E+06	1,06E+07	1,64E+07	3,78E+06	2,28E+06	3,12E+06	8,31E+04	4,16E+06	1,15E+07	4,41E+06
GV Prensas 1 Extração	2,82E+07	5,73E+07	5,57E+06	8,65E+06	1,96E+07	1,56E+06	1,76E+06	6,05E+06	1,48E+05	3,12E+06	3,33E+06	1,32E+07
GV Prensas 2 Extração	2,68E+07	5,44E+07	5,29E+06	8,22E+06	1,86E+07	1,48E+06	1,67E+06	5,75E+06	1,41E+05	2,97E+06	3,16E+06	1,26E+07
GV Prensas 3 Extração	2,96E+07	6,02E+07	5,85E+06	9,08E+06	2,05E+07	1,63E+06	1,85E+06	6,35E+06	1,55E+05	3,28E+06	3,50E+06	1,39E+07

Car – Carrasquenha; Cob – Cobrançosa; GV – Galega Vulgar

Quadro 6.25

Valores obtidos para cada quadrante para todos os azeites analisados, após a utilização do *software* ImageJ.

Amostras / Quadrantes	1a	1b	1c	2a	2b	2c	3a	3b	3c	4a	4b	4c
Car Duas Fases 1 Extração	0,017	0,017	0,001	0,030	0,028	0,008	0,002	0,006	0,000	0,015	0,009	0,006
Car Duas Fases 2 Extração	0,017	0,017	0,001	0,031	0,029	0,008	0,002	0,006	0,000	0,016	0,010	0,006
Car Duas Fases 3 Extração	0,016	0,016	0,001	0,028	0,027	0,007	0,002	0,006	0,000	0,014	0,009	0,006
Car Prensas 1 Extração	0,017	0,017	0,001	0,030	0,028	0,008	0,002	0,006	0,000	0,015	0,009	0,006
Car Prensas 2 Extração	0,017	0,017	0,001	0,031	0,029	0,008	0,002	0,006	0,000	0,016	0,010	0,006
Car Prensas 3 Extração	0,016	0,016	0,001	0,028	0,027	0,007	0,002	0,006	0,000	0,014	0,009	0,006
Cob Duas Fases 1 Extração	0,040	0,037	0,039	0,046	0,027	0,036	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Cob Duas Fases 2 Extração	0,042	0,038	0,041	0,049	0,028	0,038	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Cob Duas Fases 3 Extração	0,038	0,035	0,037	0,044	0,026	0,034	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Cob Prensas 1 Extração	0,036	0,049	0,006	0,034	0,030	0,009	0,004	0,001	0,000	0,003	0,002	0,001
Cob Prensas 2 Extração	0,038	0,051	0,006	0,035	0,032	0,009	0,004	0,001	0,000	0,003	0,002	0,002
Cob Prensas 3 Extração	0,034	0,047	0,005	0,032	0,029	0,008	0,004	0,001	0,000	0,003	0,002	0,001
GV Duas Fases 1 Extração	0,011	0,020	0,016	0,017	0,008	0,005	0,009	0,000	0,000	0,008	0,000	0,000
GV Duas Fases 2 Extração	0,012	0,021	0,017	0,018	0,008	0,005	0,010	0,000	0,000	0,009	0,000	0,000
GV Duas Fases 3 Extração	0,011	0,019	0,015	0,016	0,007	0,004	0,009	0,000	0,000	0,008	0,000	0,000
GV Prensas 1 Extração	0,018	0,020	0,008	0,013	0,010	0,007	0,001	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000
GV Prensas 2 Extração	0,019	0,021	0,009	0,014	0,011	0,007	0,001	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000
GV Prensas 3 Extração	0,017	0,019	0,008	0,012	0,010	0,006	0,001	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000

Quadro 6.26

Valores obtidos para cada quadrante para todos os azeites analisados, após a utilização do *software* ImageJ, RGB, para a cor *Red* - Vermelha.

Amostras / Quadrantes	1aR	1bR	1cR	2aR	2bR	2cR	3aR	3bR	3cR	4aR	4bR	4cR
Car Duas Fases 1 Extração	0,011	0,021	0,005	0,008	0,015	0,001	0,001	0,001	0,000	0,001	0,003	0,003
Car Duas Fases 2 Extração	0,015	0,009	0,000	0,013	0,017	0,000	0,001	0,001	0,000	0,009	0,003	0,004
Car Duas Fases 3 Extração	0,043	0,007	0,000	0,013	0,018	0,000	0,001	0,002	0,000	0,001	0,002	0,005
Car Prensas 1 Extração	0,002	0,020	0,001	0,031	0,011	0,003	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Car Prensas 2 Extração	0,015	0,036	0,002	0,036	0,016	0,010	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Car Prensas 3 Extração	0,023	0,020	0,004	0,021	0,026	0,012	0,004	0,014	0,000	0,019	0,012	0,005
Cob Duas Fases 1 Extração	0,002	0,016	0,008	0,009	0,005	0,000	0,008	0,000	0,000	0,008	0,000	0,000
Cob Duas Fases 2 Extração	0,012	0,021	0,002	0,002	0,008	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Cob Duas Fases 3 Extração	0,033	0,041	0,016	0,016	0,017	0,000	0,002	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000
Cob Prensas 1 Extração	0,011	0,021	0,005	0,008	0,015	0,001	0,001	0,001	0,000	0,001	0,003	0,003
Cob Prensas 2 Extração	0,015	0,009	0,000	0,013	0,017	0,000	0,001	0,001	0,000	0,009	0,003	0,004
Cob Prensas 3 Extração	0,043	0,007	0,000	0,013	0,018	0,000	0,001	0,002	0,000	0,001	0,002	0,005
GV Duas Fases 1 Extração	0,002	0,020	0,001	0,031	0,011	0,003	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
GV Duas Fases 2 Extração	0,015	0,036	0,002	0,036	0,016	0,010	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
GV Duas Fases 3 Extração	0,023	0,020	0,004	0,021	0,026	0,012	0,004	0,014	0,000	0,019	0,012	0,005
GV Prensas 1 Extração	0,002	0,016	0,008	0,009	0,005	0,000	0,008	0,000	0,000	0,008	0,000	0,000
GV Prensas 2 Extração	0,012	0,021	0,002	0,002	0,008	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
GV Prensas 3 Extração	0,033	0,041	0,016	0,016	0,017	0,000	0,002	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000

Quadro 6.27

Valores obtidos para cada quadrante para todos os azeites analisados, após a utilização do *software* ImageJ, RGB, para a cor *Green* - Verde.

Amostras / Quadrantes	1aG	1bG	1cG	2aG	2bG	2cG	3aG	3bG	3cG	4aG	4bG	4cG
Car Duas Fases 1 Extracção	0,501	0,551	0,480	0,504	0,516	0,499	0,505	0,522	0,520	0,517	0,510	0,517
Car Duas Fases 2 Extracção	0,550	0,548	0,546	0,555	0,582	0,548	0,589	0,590	0,593	0,585	0,578	0,578
Car Duas Fases 3 Extracção	0,654	0,548	0,549	0,551	0,585	0,533	0,592	0,592	0,591	0,586	0,580	0,581
Car Prensas 1 Extracção	0,592	0,578	0,588	0,669	0,669	0,591	0,457	0,433	0,409	0,538	0,548	0,526
Car Prensas 2 Extracção	0,525	0,551	55,500	0,552	0,556	0,572	0,606	0,605	0,623	0,525	0,521	0,541
Car Prensas 3 Extracção	0,610	0,623	0,618	0,638	0,651	0,625	0,663	0,650	0,655	0,629	0,606	0,608
Cob Duas Fases 1 Extracção	0,344	0,355	0,336	0,343	0,327	0,324	0,321	0,320	0,308	0,319	0,312	0,319
Cob Duas Fases 2 Extracção	0,337	0,320	0,322	0,322	0,313	0,292	0,285	0,294	0,289	0,270	0,262	0,276
Cob Duas Fases 3 Extracção	0,578	0,572	0,542	0,601	0,604	0,579	0,550	0,543	0,543	0,601	0,585	0,594
Cob Prensas 1 Extracção	0,501	0,551	0,480	0,504	0,516	0,499	0,505	0,522	0,520	0,517	0,510	0,517
Cob Prensas 2 Extracção	0,550	0,548	0,546	0,555	0,582	0,548	0,589	0,590	0,593	0,585	0,578	0,578
Cob Prensas 3 Extracção	0,654	0,548	0,549	0,551	0,585	0,533	0,592	0,592	0,591	0,586	0,580	0,581
GV Duas Fases 1 Extracção	0,592	0,578	0,588	0,669	0,669	0,591	0,457	0,433	0,409	0,538	0,548	0,526
GV Duas Fases 2 Extracção	0,525	0,551	55,500	0,552	0,556	0,572	0,606	0,605	0,623	0,525	0,521	0,541
GV Duas Fases 3 Extracção	0,610	0,623	0,618	0,638	0,651	0,625	0,663	0,650	0,655	0,629	0,606	0,608
GV Prensas 1 Extracção	0,344	0,355	0,336	0,343	0,327	0,324	0,321	0,320	0,308	0,319	0,312	0,319
GV Prensas 2 Extracção	0,337	0,320	0,322	0,322	0,313	0,292	0,285	0,294	0,289	0,270	0,262	0,276
GV Prensas 3 Extracção	0,578	0,572	0,542	0,601	0,604	0,579	0,550	0,543	0,543	0,601	0,585	0,594

Quadro 6.28

Valores obtidos para cada quadrante para todos os azeites analisados, após a utilização do *software* ImageJ, RGB, para a cor *Blue* - Azul.

Amostras / Quadrantes	1aB	1bB	1cB	2aB	2bB	2cB	3aB	3bB	3cB	4aB	4bB	4cB
Car Duas Fases 1 Extracção	0,991	0,991	1,000	0,996	0,991	0,999	0,999	0,999	1,000	0,999	0,999	0,999
Car Duas Fases 2 Extracção	0,996	0,993	1,000	0,982	0,991	1,000	0,999	0,999	1,000	0,992	0,998	0,998
Car Duas Fases 3 Extracção	0,976	0,995	1,000	0,974	0,991	1,000	0,999	0,999	1,000	1,000	0,998	0,998
Car Prensas 1 Extracção	0,999	0,984	1,000	0,988	0,993	0,999	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Car Prensas 2 Extracção	0,999	0,976	1,000	0,983	0,991	0,994	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Car Prensas 3 Extracção	0,982	0,983	0,998	0,992	0,988	0,993	0,998	0,994	1,000	0,994	0,995	0,998
Cob Duas Fases 1 Extracção	0,999	0,987	0,998	1,000	0,996	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Cob Duas Fases 2 Extracção	0,998	0,983	0,999	0,999	0,994	0,999	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Cob Duas Fases 3 Extracção	0,978	0,970	0,991	0,991	0,993	1,000	0,990	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Cob Prensas 1 Extracção	0,991	0,991	1,000	0,996	0,991	0,999	0,999	0,999	1,000	0,999	0,999	0,999
Cob Prensas 2 Extracção	0,996	0,993	1,000	0,982	0,991	1,000	0,999	0,999	1,000	0,992	0,998	0,998
Cob Prensas 3 Extracção	0,976	0,995	1,000	0,974	0,991	1,000	0,999	0,999	1,000	1,000	0,998	0,998
GV Duas Fases 1 Extracção	0,999	0,984	1,000	0,988	0,993	0,999	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
GV Duas Fases 2 Extracção	0,999	0,976	1,000	0,983	0,991	0,994	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
GV Duas Fases 3 Extracção	0,982	0,983	0,998	0,992	0,988	0,993	0,998	0,994	1,000	0,994	0,995	0,998
GV Prensas 1 Extracção	0,999	0,987	0,998	1,000	0,996	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
GV Prensas 2 Extracção	0,998	0,983	0,999	0,999	0,994	0,999	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
GV Prensas 3 Extracção	0,978	0,970	0,991	0,991	0,993	1,000	0,990	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Anexo XIV

Trabalhos apresentados e publicados no âmbito deste trabalho

Artigos publicados e submetidos para publicação, com *referee*:

- Analytical characteristics of olive oils produced by two different extraction techniques, in the Portuguese olive variety 'Galega Vulgar'

By **Luís Vaz-Freire**, José Manuel J. Gouveia and Ana Maria Costa Freitas

GRASAS Y ACEITES, 59 (3), JULIO-SEPTIEMBRE, 260-266, 2008,

SN: 0017-3495

RESUMEN

Características analíticas de los aceites de oliva producidos por diversas técnicas de extracción con la variedad portuguesa 'Galega Vulgar'.

Se han comparado dos líneas de procesamiento de aceite, utilizando un sistema de prensas (SP) o un decantador centrífugo (DC). El procesamiento que recurre al sistema de prensas es un sistema discontinuo que, sin embargo permite obtener aceites vírgenes de gran calidad. Para este estudio se ha utilizado la variedad Portuguesa Galega común. Las aceitunas fueron tratadas contra el ataque de plagas, y recogidas en un punto de maduración predeterminado. Del mismo modo, se evaluó el porcentaje de aceite obtenido de la cosecha.

Se han considerado los resultados analíticos teniendo en cuenta la determinación de la influencia de la extracción en el producto final. Este punto ha sido evaluado por medio de un tratamiento estadístico. Aunque se han observado diferencias significativas entre los resultados de algunos de los parámetros analizados, sólo las diferencias verificadas en el grado de acidez son susceptibles de modificar la clasificación final del aceite, situándolo en la categoría lampante.

PALABRAS CLAVE: Aceite de oliva – 'Galega Vulgar' – Técnicas de extracción – Tecnología.

SUMMARY

Analytical characteristics of olive oils produced by two different extraction techniques, in Portuguese olive variety 'Galega Vulgar'.

A metal hammer-decanter (HD) olive processing line was compared to a traditional metal hammer-press (HP) line, a discontinuous method which, when properly used, yields high-quality virgin olive oils. Galega olives (traditional Portuguese variety) were used. Olives were picked at a predetermined maturation stage and plagues and oil content were evaluated before processing. Years, extraction technology, data replicates, and years*extraction, were taken into account and compared using statistical treatment. In spite of significant differences among the results obtained, only acidity was statistically significant and sufficient for classifying the produced olive oil into a lampante category.

KEY-WORDS: Extraction technique – 'Galega Vulgar' – Olive oil – Technology.

- COMPARAÇÃO DE ALGUNS COMPOSTOS DO AROMA DE AZEITES
OBTIDOS POR DOIS MÉTODOS DE EXTRACÇÃO DIFERENTES

Marques, P.A.; Vaz-Freire, L.; Freitas, A.M.

REVISTA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS Volume XXX, N.º 1 Janeiro-Junho
2007, 183-186.

Palavras – -Chaves: Azeite, SPME, GC-MS, Qualidade

Resumo: A determinação dos principais compostos do aroma de azeites responsáveis pelos atributos positivos e negativos do aroma de azeites de variedades Portuguesas (Carrasquenha, Cobrançosa e Galega Vulgar) foram estudados a partir do método microextracção em fase sólida (SPME), em headspace, e posterior análise por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectometria de Massa (GC-MS). Avaliou-se dois revestimentos diferentes de fibras para SPME: Poliacrilato (PA) e Divinilbenzeno/Carboxen/Polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS). Foram identificados 42 compostos do azeite. Este estudo permitiu verificar que esta técnica de separação e identificação de compostos voláteis permite a extracção de um número de compostos capazes de determinar o perfil final de aroma de um azeite, permitindo ainda a diferenciação entre azeites obtidos por métodos de extracção diferentes: método clássico/Prensa e método por Centrifugação de Duas Fases. Para os azeites estudados provenientes do Sistema de Prensa apresentaram características negativas “Avinhado-avinagrado” e pequenas notas positivas de “Frutado” e “Amargo”. Os azeites de Duas Fases apresentaram características negativas de “Ranço” mas notas superiores de “Frutado” e “Amargo”.

- COMPARAÇÃO DE AZEITES OBTIDOS POR PRODUÇÃO EM OLIVAL “TRADICIONAL” E OLIVAL “SUPER-INTENSIVO”

Magalhães, S.C.F.P.; Vaz-Freire, L.1; Freitas, A.M.

REVISTA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS Volume XXX, N.º 1 Janeiro-Junho 2007, 477-481.

Palavras – chave: azeite, qualidade, olival, produção

Resumo: O principal objectivo deste trabalho foi comparar as propriedades químicas de azeites obtidos de azeitonas provenientes de dois maneios de cultivo diferentes, o tradicional e o super-intensivo. As variedades provenientes do olival super-intensivo foram a Cobrançosa, Galega Vulgar, Cordovil e Arbequina. As azeitonas provenientes do olival tradicional pertencem às variedades Cobrançosa, Picual e Azeiteira. Neste tipo de olival distinguem-se dois tipos, o tradicional com solo mobilizado e limpo e o tradicional com coberto vegetal. As análises e controlos realizados às azeitonas foram o índice de gordura, matéria seca e humidade através da Ressonância Magnética Nuclear (RMN), o controlo do nível de pragas (gafa e mosca da azeitona), o nível de maturação. Para o azeite, extraído pelo equipamento Abencor, foram analisados a acidez, o índice de peróxidos, espectrofotometria no ultravioleta e o rendimento real para azeite. Verificou-se que os azeites obtidos das diferentes cultivares enquadram-se na categoria de Azeites Virgens Extra. De todos os parâmetros aqui estudados apenas o Índice de Maturação e o Rendimento podem ser atribuídos de forma significativa ao manejo, os restantes, são inerentes à própria variedade ou a outros factores de carácter agronómico ou tecnológico.

- Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography for Fingerprint Pattern Recognition in Olive oils produced by two different techniques in Portuguese olive varieties Galega Vulgar, Cobrançosa e Carrasquenha.

By **L. Torres Vaz-Freire**, M.D.R. Gomes da Silva, A. M. Costa Freitas

Submitted to

Journal of Chromatography A

Key Words

Comprehensive two-dimensional gas chromatography; Olive oil; *Galega Vulgar*, *Carrasquenha*, *Cobrançosa*, Volatile organic compounds; SPME; Fingerprinting; Image treatment

Abstract

For olive oil production a metal hammer-decanter olive processing line was compared to a traditional metal hammer-press line, a discontinuous method which, if properly used, yields high-quality virgin olive oils. *Galega*, *Carrasquenha* and *Cobrançosa* olives (traditional Portuguese varieties) were studied. The analysis of the aroma compounds was performed after headspace-solid phase micro extraction using a 2 cm 50/30 μm DVB/Carboxen/PDMS fibre. The analytical results obtained for these three different olive oil varieties, from a single year harvest and processed with two different extraction technologies, after comprehensive gas-chromatography in tandem with time of flight mass spectrometry, were compared using statistical image treatment, for fingerprint recognitions. Fingerprint image monitoring of the aroma compounds of the olive oil allowed a rapid differentiation of the three studied varieties as well as the extraction method used. The volatile compounds responsible for their characterization were tentatively identified in a bi-dimensional polar/non-polar column set in the GC \times GC/Tof-MS apparatus. This methodology allowed the reduction of the number of compounds needed for matrices characterization, preserving the efficiency of the discrimination, when compared with the traditional methods where full peaks identification is needed.

- Sensorial analysis and electronic aroma detection to compare olive oils produced by different extraction methods

By **Luis de TORRES VAZ-FREIRE**, José GOUVEIA, Ana M. COSTA FREITAS

Submitted to

The Journal of Food Composition and Analysis

Abstract

Sensorial Analysis and Aroma analysis by electronic sensory devices have been used to compare olive oils produced by two different extraction methods.

The extraction methods compared were press system and two phase decanter. Samples were produced during the harvests of 2002-2004, and the olive were all from the same variety. The variety used was a Portuguese one Galega. Olive were picked and technologically handled under predetermined and supervised conditions. Olive oils produced were better classified when sensory analysis by panel was applied then when a electronic sensory analysis was performed, even after sensors optimization. This observation is in accordance to the fact that olive oils is a low volatility matrix and “flaveur”, rather than aroma, along with taste can give a clearer characterization then aroma sensory analysis where aroma is the main characteristic evaluated.

Key Words

Sensorial Analysis, Electronic nose , olive oils, extraction technology, Galega Vulgar, Aroma.

Comunicações orais em congressos:

– A. Costa Freitas, **L. Torres VAZ-FREIRE**, J. Gouveia e M.D.R. Gomes da Silva - APPLICATION OF GCxGC FOR FINGERPRINT PATTERN RECOGNITION IN OLIVE OILS PRODUCED BY TWO DIFERENT TECHNIQUES IN PORTUGUESE OLIVE VARIETIES - 5º Encontro Nacional de Cromatografia, 10, 11 e 12 de Dezembro de 2007, Auditório do Departamento de Mecânica da Universidade de Aveiro (Campus de Santiago), Aveiro.

Comunicações por poster em congressos:

- Marques, Patrícia Alho; **Vaz-Freire, Luis**; Freitas, Ana Maria - Comparação de alguns Compostos do Aroma De Azeites Obtidos Por Dois Métodos De Extracção Diferentes. – 8º Encontro de Química dos Alimentos. Beja, Portugal, 4 a 7 de Março de 2007.

- Magalhães, S.C.F.P.; **Vaz-Freire, L.**; Freitas, A.M. – Comparação de Azeites por Produção em Olival “Tradicional” e Olival “Super-Intensivo” - 8º Encontro de Química dos Alimentos. Beja, Portugal, 4 a 7 de Março de 2007.

– **L. VAZ-FREIRE, J. GOUVEIA, A. M. COSTA FREITAS** “Impact of Technological Extraction Procedure on Olive Oils Aliphatic Alcohols Content.” - 29th International Symposium on Capillary Chromatography and 3rd GCxGC Symposium, Palazzo die Congressi, Riva del Garda, Italy, 29 May - 2 June, 2006.

– **L. VAZ-FREIRE, J. GOUVEIA, A. M. COSTA FREITAS** · “Impact of Extraction Technology on Olive Oil Final Quality: Volatiles, Sensorial and Electronic Aroma Analysis for Portuguese Cultivar Galega Vulgar.” - 29th International Symposium on Capillary Chromatography and 3rd GCxGC Symposium, Palazzo die Congressi, Riva del Garda, Italy, 29 May - 2 June, 2006.

– **L. VAZ-FREIRE, J. GOUVEIA, A. M. COSTA FREITAS** “Comparação de dois métodos de extracção de azeite para variedades Portuguesas.” - Jornadas Científicas ICAM. Inovação Tecnológica nos Sistemas Agrícolas Mediterrânicos.– Évora, 15 e 16 de Dezembro de 2005.

– **L. VAZ-FREIRE, J. GOUVEIA, A. M. COSTA FREITAS** “Comparação de álcoois alifáticos para azeites obtidos por dois métodos de extracção para variedades Portuguesas.” - 4º Encontro Nacional de Cromatografia, 12, 13 e 14 de Dezembro de 2005, no Auditório do Colégio do Espírito Santo da Universidade de Évora, Évora.

– **L. VAZ-FREIRE, J. GOUVEIA, A. M. COSTA FREITAS** “Comparison of two different extraction methods for olive oil for Portuguese varieties. The relation of quiral components.” - Intensive Programme “Food and Health”, Paris, 22 August-2 September 2005.

- **L. VAZ-FREIRE, J. GOUVEIA, A. M. COSTA FREITAS** “Utilização de Métodos Cromatográficos para a Comparação de Azeites Obtidos por Diferentes Métodos de Extração.” - 3º Encontro Nacional de Cromatografia, Organizado pela Sociedade Portuguesa de Química e que teve lugar na Torre do Tombo, nos dias 15 a 17 de Dezembro de 2003.